

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических технологий»

На правах рукописи

Барчуков Владимир Валерьевич

**ПОИСК КАРДИОТРОПНЫХ СРЕДСТВ В РЯДУ ЛИНЕЙНЫХ
И ЦИКЛИЧЕСКИХ АЛКОКСИФЕНИЛАЗААЛКАНОВ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук
Крыжановский Сергей Александрович

Москва 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Современные представления о механизмах, лежащих в основе метаболического ремоделирования миокарда	11
1.1.1 Метаболизм энергетических субстратов в здоровом миокарде	13
1.1.2 Метаболизм энергетических субстратов в повреждённом миокарде	20
1.1.3 Фармакологическая коррекция нарушений метаболизма миокарда – миокардиальная цитопротекция	27
1.1.4 Заключение	43
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	44
2.1 Экспериментальные животные	44
2.2 Исследования <i>in vitro</i>	45
2.2.1 Молекулярные исследования	45
2.2.2 Измерение мембранного потенциала и трансмембранных ионных токов	46
2.2.3 Измерение цитозольной концентрации ионов Ca^{2+}	48
2.2.4 Изолированная полоска миокарда	48
2.3 Исследования <i>in vivo</i>	49
2.3.1 Определение LD ₅₀	49
2.3.2 Определение эффективной дозы (ED) и терапевтического индекса (ТИ)	50
2.3.3 Регистрация электрокардиограммы у крыс	50
2.3.4 Оценка влияния изучаемых соединений на структуру ЭКГ	50
2.3.5 Оценка влияния изучаемых соединений на артериальное давление	51
2.3.6 Эхокардиографические исследования	52
2.3.7 Электрофизиологические исследования	53
2.3.8 Изучение анксиолитической активности	54
2.3.9 Изучение анальгетической активности	55
2.3.10 Изучение актопротекторной активности	56
2.4 Методы моделирования патологических состояний сердечно-сосудистой системы	57
2.4.1 Модель аконитиновой аритмии	57
2.4.2 Модель хлоридкальциевой аритмии	57
2.4.3 Модель хлоридбариевой аритмии	58
2.4.4 Модель реперфузионных аритмий	58
2.4.5 Модель субэндокардиальной ишемии, вызванной изопротеренолом	59
2.4.6 Модель субэндокардиальной ишемии, вызванной добутамином	60
2.4.7 Модель экспериментального инфаркта миокарда	60
2.4.8 Трансляционная модель постинфарктной хронической сердечной недостаточности	60
2.4.9 Модель эндотелиальной дисфункции	61

2.4.10 Модель ангиогенеза, индуцированного отменой этанола у крыс с алкогольной зависимостью	61
2.5 Статистическая обработка результатов	62
2.6 Используемые вещества	63
ГЛАВА 3 СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ВЫБОР СОЕДИНЕНИЯ-ЛИДЕРА	64
3.1 LD ₅₀ линейных и циклических алкоксифенилазаланов	64
3.2 Скрининговые исследования антиаритмической и антиишемической активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаланов	65
3.2.1 Модель аконитиновой аритмии	65
3.2.2 Модель хлоридкальциевой аритмии	68
3.2.3 Модель реперфузионной аритмии	71
3.2.4 Модель субэндокардиальной ишемии	74
3.3 Изучение взаимосвязи структура-эффект в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаланов	76
3.3.1 Изучение влияния расположения фармакоформных элементов на токсичность изучаемых соединений	76
3.3.2 Изучение влияния расположения фармакоформных элементов на антиаритмическую активность изучаемых соединений	77
3.3.3 Изучение влияния расположения фармакоформных элементов на антиишемическую активность изучаемых соединений	78
3.4 Выбор соединения-лидера	78
ГЛАВА 4 ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ И СПЕКТРА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ АЛМ-802	81
4.1 Изучение доза-зависимых эффектов соединения-лидера	81
4.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на структуру ЭКГ, артериальное и венозное давление	82
4.2.1 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на структуру ЭКГ	82
4.2.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на артериальное и венозное давление	83
4.3 Сравнительное изучение целевой активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов	85
4.3.1 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели аконитиновой аритмии	85
4.3.2 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели хлоридкальциевой аритмии	86
4.3.3 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонного препарата амиодарона на модели хлоридбариевой аритмии	87
4.3.4 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели реперфузионной аритмии	88
4.3.5 Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели субэндокардиальной ишемии,	

вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом у крыс с интактным сосудистым руслом	90
4.3.6 Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 на модели субэндокардиальной ишемии, вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом и селективным β_1 -адреномиметиком – добутамином у крыс с интактным сосудистым руслом.....	91
4.3.7 Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели субэндокардиальной ишемии, вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом у крыс с эндотелиальной дисфункцией.....	92
4.4 Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802	95
4.4.1 Изучение электрофизиологических и рецепторных механизмов, лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802 в экспериментах <i>in vitro</i>	95
4.4.1.1 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на вызванные потенциалы действия... ..	95
4.4.1.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на трансмембранные K^+ - и Na^+ -токи. .	96
4.4.1.3 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вызванное деполяризацией.	99
4.4.1.4 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на риаудиновые рецепторы.	100
4.4.2 Изучение кардиопротективных эффектов соединения АЛМ-802 в экспериментах <i>in vivo</i>	103
4.4.2.1 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на деполяризацию предсердий и желудочков сердца в острейшую фазу инфаркта миокарда.....	103
4.4.2.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на инотропную функцию сердца на трансляционной модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности.....	106
4.4.2.3 Изучение молекулярных механизмов лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802.	108
4.5 Изучение спектра фармакологической активности соединения АЛМ-802.....	113
4.5.1 Изучение анксиолитической активности соединения АЛМ-802	113
4.5.2 Изучение анальгетической активности соединения АЛМ-802	115
4.5.3 Изучение актопротекторной активности соединения АЛМ-802.....	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
ВЫВОДЫ.....	130
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....	131
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	134
Приложение 1 Линейные и циклические алкоксифенилазаалканы (шифры, химические названия и структурные формулы)	168

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются наиболее распространённой причиной смерти во всем мире. Согласно результатам систематического мета-анализа «Global Burden of Disease Study», оценившего глобальную, региональную и национальную летальность по 282 причинам смерти в 195 странах мира за период 1980-2017 год, «ежегодная летальность от ССЗ в мире превышает 17 миллионов случаев» [126]. Как следует из материалов этого анализа, за десятилетие, предшествующее 2017 году, число людей, умирающих от ССЗ, увеличилось на 21%, при этом на ишемическую болезнь сердца (ИБС) и инсульт приходится почти 50% и 35% смертей от ССЗ соответственно. В Европе от ССЗ ежегодно умирает около 4 миллионов человек, что составляет примерно 45% от общей летальности, при этом на ИБС приходится 44% смертей от ССЗ [305]. В РФ летальность от ССЗ также занимает первое место в структуре общей смертности. Однако, в РФ за период 2017-2019 г.г. отмечена тенденция к снижению летальности от ССЗ, так «в 2019 году летальность по сравнению с 2015 годом снизилась на 4,76%, при этом на ИБС приходится 28,4% смертей от ССЗ, а на цереброваскулярные болезни (в том числе инсульт) – 14,4 %» [1]. Экономический ущерб от ССЗ в Российской Федерации за период с 2015 по 2019 год составил 8,7 трлн. рублей, что составляет 9,2 ВВП [1,10]. Ситуация резко обострилась в 2020 году, когда пандемия COVID-19 оказала разрушительное воздействие на заболеваемость и смертность во всем мире. По данным Министерства здравоохранения РФ, за январь – октябрь 2020 года летальность в России от ССЗ составила 620,7 случаев на 100 тыс. населения, что на 6,6% выше, чем за аналогичный период 2019 года, а больничная летальность от ССЗ возросла на 58,9% [30]. Немаловажно и то, что рост заболеваемости и летальности от ССЗ происходит несмотря на повсеместное внедрение в широкую медицинскую практику самых эффективных на современном этапе лекарственных средств: ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, ингибиторов ренина, β -блокаторов, антагонистов альдостерона, антагонистов рецепторов альдостерона, неселективных антагонистов вазопрессиновых рецепторов и т.д. Естественно, что поиск и последующее внедрение в широкую клиническую практику отечественных инновационных лекарственных средств представляется актуальной задачей.

В течение последних десятилетий во многих исследованиях убедительно была доказана роль изменения метаболизма свободных жирных кислот (СЖК) в патогенезе ССЗ, нарушение метаболизма которых в условиях дефицита кислорода инициирует развитие патологического метаболического ремоделирования миокарда, во многом связанного с накоплением в миокарде недоокисленных продуктов метаболизма СЖК. Исследования, посвящённые изучению патогенеза метаболического ремоделирования миокарда, создали фундаментальную базу для

поиска нового класса препаратов – миокардиальных цитопротекторов, в частности препаратов, подавляющих аномальный метаболизм СЖК. Среди них наибольшую клиническую эффективность показали препараты триметазидин и ранолазин, механизм кардиопротективного действия которых связан с ингибированием β-окисления СЖК в митохондриях, в силу чего эти препараты получили название «"парциальные ингибиторы окисления жирных кислот" – р-FOX ингибиторы (partial fatty acid oxidation inhibitors)» [291]. В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в течение ряда лет ведутся поиски оригинальных инновационных лекарственных средств для коррекции метаболического ремоделирования миокарда. В частности, проводятся исследования по поиску и изучению особенностей механизма действия в ряду линейных и циклических алоксифенилазаалканов, имеющих общие фармакоформные элементы с триметазидином и ранолазином (рисунок В.1), то есть потенциально обладающих свойствами р-FOX ингибиторов.

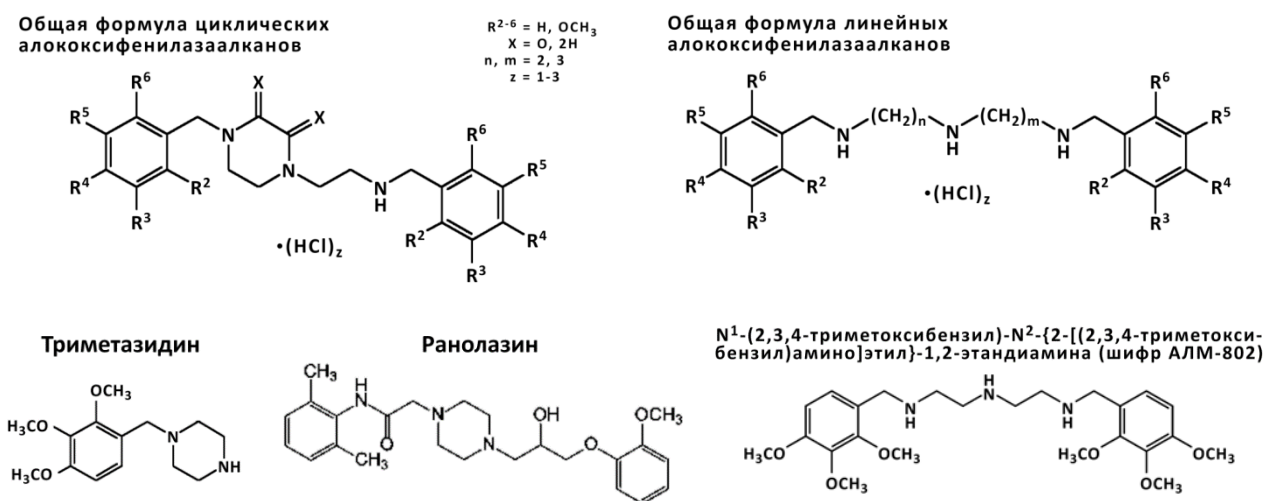


Рисунок В.1 – Общие формулы линейных и циклических алоксифенилазаалканов, структурные формулы соединения-лидера АЛМ-802, рFOX-ингибиторов триметазидина и ранолазина

Степень разработанности проблемы. Термин «метаболическое ремоделирование миокарда» предложил в 2004 году голландский физиолог Марк ван Билсен (van Bilsen M.). Под этим термином автор подразумевал метаболические сдвиги, происходящие в миокарде при хронической сердечной недостаточности, которые характеризуются изменениями в функции митохондрий, приводящими к «заметному смещению предпочтения энергетических субстратов от СЖК в сторону глюкозы» [68]. По мере накопления фундаментальных данных, раскрывающих сущность метаболических нарушений в миокарде в условиях его неадекватного кровоснабжения [64,130,138], возникло понимание того, что оптимизация энергообеспечения сердечной мышцы предоставляет большие возможности в плане её защиты от ишемических повреждений путём модификации метаболизма кардиомиоцитов посредством применения лекарственных средств, обеспечивающих использование меньшего количества кислорода на одну единицу образуемого

АТФ [121,207]. Другими словами, понимание механизмов, лежащих в основе метаболического ремоделирования миокарда, «открыло возможность для создания нового направления медикаментозного воздействия на ишемизированный миокард – миокардиальной цитопротекции» [32,288]. На протяжении XXI века неоднократно предпринимались попытки создания оригинальных цитопротекторов, воздействующих на различные звенья энергетического метаболизма кардиомиоцитов [127,162,198]. Однако, существенных успехов достигнуто не было. Наибольшую клиническую эффективность показал, внедрённый в клинику ещё в 70-х годах XX века, препарат триметазидин, в основе механизма действия которого лежит способность ингибировать 4-ю стадию β -окисления СЖК [111]. Клиническая эффективность триметазида при различных патологических состояниях (хроническая ИБС, ХСН, диабетическая кардиомиопатия и т.д.) убедительно доказана большим количеством плацебо контролируемых, рандомизированных исследований [116,231,282] и мета-анализов [45,346]. Вместе с тем, триметазидин не обладает антиаритмической активностью, что существенно снижает возможности его клинического применения. Другой ингибитор β -окисления СЖК ранолазин обладает достаточно выраженной антиаритмической активностью [143], тогда как антиишемическое действие препарата менее выражено. Согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов по лечению стабильной стенокардии, ранолазину присвоен класс IIa (уровень доказательности B) в качестве средства второго ряда для терапии стенокардии и ишемии [41]. Таким образом, в настоящее время в клинике отсутствуют миокардиальные цитопротекторы обладающие выраженной антиишемической и антиаритмической активностью.

Цель исследования. Скрининг кардиотропной активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаалканов с целью выявления соединения-лидера и его дальнейшего доклинического фармакологического изучения.

Задачи исследования:

1. Скрининг кардиотропной активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаалканов и выявление соединения-лидера.
2. Изучение взаимосвязи «структура - действие» в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаалканов.
3. Изучение зависимости «доза - эффект» соединения-лидера.
4. Сравнительное изучение целевой активности соединения-лидера и эталонных препаратов.
5. Изучение кардиопротективных эффектов соединения-лидера на моделях острой и хронической ишемии миокарда.
6. Изучение механизмов, лежащих в основе кардиотропной активности соединения-лидера в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.
7. Изучение спектра фармакологической активности соединения-лидера.

Научная новизна. Впервые в ряду линейных алкоксифенилаалканов выявлено соединение N¹ - (2,3,4 - триметоксибензил) - N² - {2 - [(2,3,4 - триметоксибензил)амино]этил} - 1,2-этандиамина (шифр АЛМ-802) обладающее выраженной антиишемической и антиаритмической активностью, не уступающей таковой у эталонных препаратов. Впервые показано, что соединение АЛМ-802 обладает комплексным механизмом кардиопротективного действия включающим в себя блокаду трансмембранных, потенциалзависимых Na⁺- и K⁺-каналов, ингибирование рианодиновых рецепторов 2 типа (RyR2). Впервые изучены молекулярные механизмы, лежащие в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802. Впервые показана способность соединения АЛМ-802 препятствовать формированию в ишемизированном миокарде очагов ранней аномальной деполяризации, а также улучшать течение ХСН. Впервые у соединения АЛМ-802 выявлена анксиолитическая, анальгетическая и актопротекторная активность.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установленные зависимости «структура – действие» в ряду линейных и циклических алкоксифенилаалканов применяются в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» для направленного химического синтеза новых оригинальных биологически активных кардиотропных соединений. Выявленные центральные эффекты соединения АЛМ-802 дают предпосылки к дальнейшему изучению его механизмов действия. Результаты систематического доклинического фармакологического изучения спектра и механизмов кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 могут составить основу досье для получения разрешения на проведение 1-ой фазы его клинических испытаний.

Методология и методы исследования. В настоящей работе использован комплекс методических приёмов, модельных экспериментов и фармакологическая методология, позволившая в полной мере решить поставленные перед исследователем задачи.

Положения, выносимые на защиту:

1. В ряду производных линейных алкоксифенилтриаалканов выявлено соединение-лидер АЛМ-802 обладающее выраженной антиишемической и антиаритмической активностью.
2. По спектру и интенсивности антиаритмической активности соединение АЛМ-802 превосходит эталонные препараты триметазидин и ранолазин.
3. Соединение АЛМ-802 проявляет выраженную антиишемическую активность как у животных с интактным, так и поврежденным сосудистым руслом и превосходит по этому виду активности эталонные препараты триметазидин и ранолазин.
4. В модельных экспериментах, воспроизводящих постинфарктную хроническую сердечную недостаточность (ХСН), соединение АЛМ-802 уменьшает степень патологического ремоделирования левого желудочка сердца, значимо увеличивает его инотропную функцию,

восстанавливает, сниженный в условиях патологии ХСН, уровень экспрессии мРНК генов β_1 - и β_2 -адренорецепторов, а также мРНК генов RyR2

5. Согласно результатам электрофизиологических исследований, выполненных в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, соединение АЛМ-802 блокирует трансмембранные потенциалзависимые Na^+ - и K^+ -каналы, т.е. проявляет свойства антиаритмических лекарственных средств I и III классов по классификации Е.М. Vaughan Williams, а также препятствует формированию в ишемизированном миокарде очагов ранней аномальной деполяризации и тем самым снижает риск возникновения злокачественных нарушений сердечного ритма.
6. Соединение АЛМ-802 контролирует внутриклеточный гомеостаз ионов Ca^{2+} посредством регуляции активности RyR2 – рецепторных Ca^{2+} проводящих каналов, встроенных в мембрану саркоплазматического ретикулула.
7. Соединение АЛМ-802, помимо кардиопротективной, обладает широким спектром фармакологической активности, включающим в себя анксиолитическое, анальгетическое и актопротекторное действие.

Степень достоверности. Исследование выполнено на большом экспериментальном материале с использованием адекватных методических приёмов. Статистическая обработка полученных данных была проведена с привлечением соответствующих современных методов математической статистики. Выводы базируются на собственных экспериментальных данных и анализе литературы.

Апробация материалов диссертации. Материалы диссертационной работы были представлены на V Съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (14-18 мая 2018 года, г. Ярославль); всероссийской научной конференции молодых ученых «Достижения современной фармакологической науки» (08-10 ноября 2018 года, г. Рязань); VII Евразийском конгрессе кардиологов (17-18 мая 2019 года, г. Ташкент); VI съезде фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства» (20-24 ноября 2023 года, МО п. Подвенки). Диссертационная работа была апробирована на расширенном заседании лаборатории фармакологического скрининга, отдела химии лекарственных средств, отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» 27.06.2023 года.

Личный вклад автора состоит в проведении экспериментов скрининга, изучения кардиотропных свойств и механизмов действия соединения АЛМ-802, систематизации и интерпретации результатов исследований, анализа литературных данных по теме диссертации, статистической обработке полученных результатов, написании статей и тезисов, представлении результатов на российских и международных съездах и конференциях. При включённом участии автора проведены электрофизиологические, молекулярные и поведенческие эксперименты.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 34 научных работы:

- 19 статей в рецензируемых научных журналах входящих в РИНЦ (из них 13 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ);
- 11 тезисов докладов в материалах научных съездов и конференций;
- 4 патента РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 170 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов, заключения и выводов. Содержит 27 таблиц и 19 рисунков. Список литературы включает 351 источник, из них 40 отечественных и 311 англоязычных.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о механизмах, лежащих в основе метаболического ремоделирования миокарда

Известно, что у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) в основе сократительной дисфункции левого желудочка сердца лежит нарушение утилизации энергетических субстратов, инициированное энергетическим дефицитом и окислительным стрессом миокарда [234,239,292]. Эти изменения метаболизма субстратов, их интермедиантов и окислительный стресс, а не дефицит аденозинтрифосфата (АТФ) как такового, инициируют сократительную дисфункцию и дезадаптивное метаболическое ремоделирование сердца. К сожалению, наиболее часто применяемые у пациентов с ХСН терапевтические подходы представляются недостаточными, поскольку преимущественно нацелены на подавление избыточной активности нейрогуморальных систем, снижение потребления кислорода миокардом за счёт разгрузки желудочков и снижения частоты сердечных сокращений, но не оказывают существенного влияния на метаболизм кардиомиоцитов [258]. Исходя из этого, кажется привлекательной потенциальная возможность коррекции метаболических нарушений, протекающих в кардиомиоцитах, в сторону более экономичного использования энергетических субстратов, которую можно рассматривать как перспективный терапевтический подход, нацеленный на оптимизацию энергообеспечения ишемизированного миокарда.

Сердечная мышца характеризуется исключительно высоким уровнем метаболизма, так при массе ≈ 300 грамм ($\sim 0,5\%$ массы организма), даже в состоянии покоя сердце потребляет $8,6\%$ от энергетических затрат целого организма. Для сравнения, при пересчёте потребляемой энергии на грамм ткани (для сердца составляющей – $440 \text{ ккал} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{р}^{-1}$), подобных показателей достигает только почечная ткань ($440 \text{ ккал} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{р}^{-1}$), а другими органами с высоким метаболизмом являются мозг ($240 \text{ ккал} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{р}^{-1}$) и печень ($200 \text{ ккал} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{р}^{-1}$), остальные же ткани потребляют от 4 до $13 \text{ ккал} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{р}^{-1}$ [325].

Основным энергетическим субстратом сердца являются свободные жирные кислоты (СЖК), за счёт β -окисления которых в нормальных физиологических условиях образуется

большая часть АТФ. Так, например, из «одной молекулы пальмитиновой кислоты образуется 134 молекулы АТФ, а из стеариновой – 147 молекул АТФ» [211]. Однако, кардиомиоциты не располагают механизмами, позволяющими им в значительных объёмах депонировать энергетические субстраты. Вследствие этого для нормальной функциональной активности сердечной мышцы необходимо непрерывное поступление энергетических субстратов и кислорода из сосудистого русла. В ходе эволюции миокард для бесперебойного энергообеспечения приобрёл способность использовать для этих целей помимо СЖК и другие доступные энергетические субстраты (углеводы, лактат, аминокислоты, кетоновые тела и т.д.) то есть стал «метаболически гибким» [292]. При этом, как скорость потребления сердечной мышцей, так и включение в свой метаболизм того или иного класса энергетических субстратов определяется, главным образом, функциональным состоянием миокарда, а также концентрациями в плазме крови энергетических субстратов, меняющимися в зависимости от глобальных процессов протекающих в целом организме (гипоксия, голодание, истощение, диабет, кетоз, фетальный период) [130]. Таким образом, процесс регуляции переключения метаболизма миокарда с одного субстрата на другой субстрат можно описать как острую или хроническую адаптацию в ответ на краткосрочные или долгосрочные изменения потребности в энергии.

В декабре 1907 года в журнале *Physiology* была опубликована статья, в которой авторы, английские физиологи Фрэнк Спиллер Локк (F.S. Locke) и Зигмунд Отто Розенхайм (O.Rosenheim), впервые показали, что в качестве энергетического субстрата, обеспечивающего сердечное сокращение, кардиомиоциты используют углеводы [206]. Позднее, в 1914 году, английский физиолог Чарльз Артур Ловатт Эванс (C.L. Evans) сообщил, что глюкоза может обеспечить не более одной трети от общей потребности сердца в энергии [108]. А в 1954 году, в экспериментах *in vivo*, американский кардиолог Ричард Джон Бинг (R.J.Bing) оценил вклад глюкозы, лактата, пирувата, жирных кислот, кетонов и аминокислот в энергообеспечение сердечной мышцы и показал, что в миокарде свободные жирные кислоты (СЖК) являются основным энергетическим субстратом, удовлетворяющим ~67% энергетических потребностей сердца [69]. Остальная же часть АТФ нарабатывается преимущественно в результате окисления пирувата, а также, в незначительном количестве, посредством окисления аминокислот с разветвленной цепью и кетоновых тел. При этом соотношение потребления между разными классами энергетических субстратов не является константой и может варьировать в пределах ~40-60% – СЖК и ~20-40% – глюкоза, в зависимости от нагрузки, наличия субстратов и гормонального статуса [130].

1.1.1 Метаболизм энергетических субстратов в здоровом миокарде

Как уже было отмечено выше, миокард обладает «метаболической гибкостью», то есть способностью использовать для обеспечения своих энергетических потребностей различные субстраты, основными из которых являются СЖК (рисунок 1.1).

Свободные жирные кислоты

Источником СЖК, поступающих в сердечную ткань из кровеносного русла, служат как циркулирующие СЖК, связанные с альбумином, так и СЖК, входящие в состав хиломикроннов или липопротеинов и высвобождающиеся при гидролизе триглицеридов липопротеинлипазой. Из циркуляторного русла СЖК поступают в кардиомиоциты как путём пассивной диффузии, так и с участием сердечного белка, связывающего жирные кислоты (H-FABP). Далее поступившие в цитоплазму кардиомиоцитов СЖК транспортируются в митохондрии при помощи транслоказы жирных кислот (FAT; синоним – 36-ой кластер дифференцировки, CD36) [3,243]. При транспорте в митохондрии короткоцепочечные (валериановая, масляная, пропионовая и др.) и длинноцепочечные (пальмитиновая, олеиновая, линолевая и др.) СЖК этерифицируются в короткоцепочечный ацетил-Коэнзим-А (ацетил-КоА) или длинноцепочечный ацил-Коэнзим-А (ацил-КоА), соответственно. Короткоцепочечный ацетил-КоА диффундирует в митохондрии через внутреннюю мембрану, тогда как длинноцепочечный ацил-КоА, прежде чем поступить в митохондрии, сначала должен попасть в "карнитиновый челнок" [315], где к ацил-КоА, присоединяя к себе карнитин, превращается в ацилкарнитин, который способен пересекать внешнюю мембрану митохондрий. Присоединение карнитина к сложным эфирам длинноцепочечных ацил-КоА катализируется ферментом карнитин-пальмитоилтрансферазой-1 (СРТ1) [315]. Таким образом, СРТ1 является ферментом, лимитирующим скорость метаболизма длинноцепочечных жирных кислот. На внутренней мембране митохондрий от ацилкарнитина под действием фермента СРТ2 отделяется карнитин, который затем реэкспортируется через митохондриальную мембрану обратно в цитозоль кардиомиоцита (рисунок 1.2).

Поступление длинноцепочечного ацил-КоА в митохондрии, опосредованное СРТ1, в случае избытка энергии в клетке

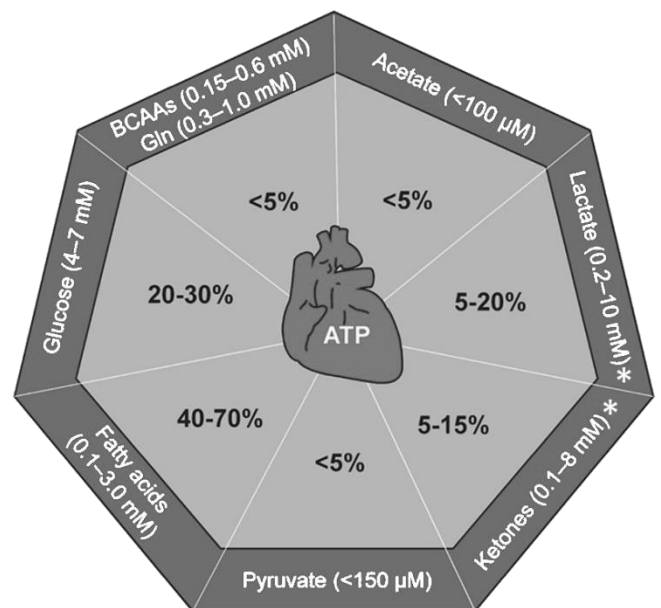


Рисунок 1.1 – Метаболические субстраты, используемые для выработки АТФ в сердце [130]

лимитируется промежуточными звеньями цикла трикарбоновой кислоты (ТСА), а в случае дефицита энергии активированной АМФ-протеинкиназой (АМРК). Избыток цитрата из цикла ТСА транспортируется в цитозоль, где он превращается в ацетил-КоА и оксалоацетат с помощью фермента АТФ-цитрат-лиазы (АСЛУ) [163]. Цитозольный ацетил-КоА дополнительно преобразуется в малонил-КоА ферментом ацетил-КоА карбоксилазой (АСС), который может быть преобразован обратно в ацетил-КоА под действием декарбоксилазы малонил-КоА (МСД). Малонил-КоА является естественным ингибитором СРТ1 и регулирует поступление СЖК в митохондрии, поскольку в случае их избытка они могут вступать в реакцию с митохондриальными активными формами кислорода (mROS) с образованием перекисей липидов и, как следствие этого, инициировать повреждение митохондриальной ДНК [277]. В случае дефицита энергии в кардиомиоцитах активированная АМРК ингибирует фермент АСС и, следовательно, образование малонил-КоА и тем самым активирует СРТ1, который стимулирует поступление СЖК в митохондрии. Помимо этого, АМРК также рекрутирует CD36 в сарколемму, увеличивая поглощение СЖК кардиомиоцитами [269].

Поступившая в митохондрии молекула ацил-КоА подвергается β -окислению СЖК, которое состоит из 4-х последовательных реакций (этапов): « β -окисление начинается с дегидрирования ацил-КоА FAD-зависимой ацил-КоА-дегидрогеназой с образованием двойной связи между α - и β -атомами углерода в продукте реакции – еноил-КоА. Восстановленный в этой реакции кофермент FADH₂ передаёт атомы водорода в цепь переноса электронов (ЦПЭ) на кофермент-Q. В результате синтезируются 2 молекулы АТФ. В следующей реакции β -окисления по месту двойной связи присоединяется молекула воды таким образом, что ОН-группа находится у β -углеродного атома ацила, образуя β -гидроксиацил-КоА. Затем β -гидроксиацил-КоА окисляется NAD⁺-зависимой дегидрогеназой. Восстановленный NADH, окисляясь в цепи переноса электронов, обеспечивает энергией синтез 3 молекул АТФ. Образовавшийся β -кетоацил-КоА подвергается тиолитическому расщеплению ферментом тиолазой, так как по месту разрыва связи С-С через атом серы присоединяется молекула кофермента-А. В результате этой последовательности из 4 реакций от ацил-КоА отделяется двууглеродный остаток –

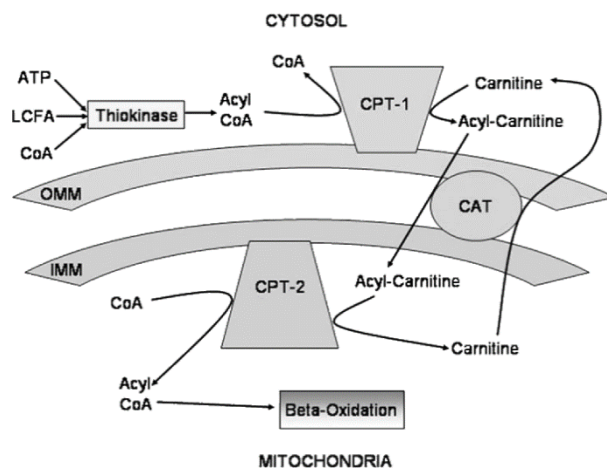


Рисунок 1.2 – Захват длинноцепочечных жирных кислот митохондрией [191]

Примечание – CAT – карнитин-ацилкарнитин-транслоказа; СРТ – карнитин-пальмитойлтрансфераза; LCFA – длинноцепочечные жирные кислоты; IMM и OMM – внутренняя и наружная митохондриальная мембрана, соответственно.

ацетил-КоА. Жирная кислота, укороченная на 2 атома углерода, вновь включается в цепь реакций дегидрирования → гидратации → дегидрирования → отщепления ацетил-КоА. Эту последовательность реакций обычно называют "циклом β-окисления", имея в виду, что одни и те же реакции повторяются с радикалом жирной кислоты до тех пор, пока вся кислота не превратится в ацетильные остатки. Конечными продуктами β-окисления СЖК является ацетил-КоА, восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и восстановленный флавинадениндинуклеотид (ФАДН₂). Затем ацетил-КоА поступает в цикл Кребса. Активность ферментов, принимающих участие в β-окислении СЖК, регулируются семейством транскрипционных факторов, активируемых рецептором пролифератора пероксисом (PPAR) – PPARα и PPARβ/δ» [131]. В миокарде PPARα также регулирует активность киназы пируватдегидрогеназы-4 (PDK4), которая ингибирует активность пируватдегидрогеназы (PDH) – фермента, ограничивающего скорость метаболизма пирувата [332]. Активация в кардиомиоцитах ещё одного члена семейства PPAR – PPARγ увеличивает поглощение ими СЖК и глюкозы, а также стимулирует биосинтез глицеролипидов [183]. Активность PPARγ контролируется транскрипционным кофактором, PPARγ-кофактор-1α (PGC1α), который является основным регулятором митохондриального биогенеза [151]. В свою очередь, активность PGC1α, а также и АМПК, дополнительно регулируется сиртуинами (SIRT) – группой гистоновых деацетилаз, которые выполняют роль ферментов и метаболических датчиков, в условиях дефицита энергии активирующихся высокими соотношениями НАД⁺ / НАДН [246].

Однако, СЖК с очень длинной цепью – кислоты с алифатическими хвостами, содержащими 22 или более атомов углерода (лигноцериновая кислота, церотовая кислота, монтановая кислота и др.) не в состоянии транспортироваться в матрикс митохондрий через их билипидную мембрану, в силу чего в клетке подвергаются внемитохондриальному, пероксисомальному β-окислению без образования АТФ, которое происходит с участием таких ферментов как ацил-КоА-оксидаза, пероксисомная карнитинацилтрансфераза и β-кетотиолаза. Метаболитами пероксисомального β-окисления СЖК являются короткоцепочечные и длинноцепочечные СЖК, которые транспортируются в матрикс митохондрий, где подвергаются митохондриальному β-окислению уже с образованием АТФ [190].

В силу своих химических свойств СЖК, независимо от длины их углеводородной цепи, метаболически весьма инертны и для участия в биохимических трансформациях и для митохондриального β-окисления с высвобождением энергии межуглеродных атомарных связей, требуют комплекса специализированных ферментных систем.

Таким образом, подводя итог, можно заключить, что β-окисление СЖК достаточно сложный метаболический процесс и зависит от следующих факторов:

– концентрации СЖК в циркулирующей крови;

- поступления СЖК в кардиомиоциты;
- модуляции активности СРТ1 через его ингибитор малонил-КоА (продуцируемый через ацетил-КоА карбоксилазу (АСС) и расщепляемый малонил-КоА-декарбоксилазой (MCD));
- соотношений ФАД / ФАДН₂ и НАД⁺ / НАДН, влияющих на ферментативную активность ацил-КоА-дегидрогеназы и 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы соответственно;
- митохондриального соотношения ацетил-КоА / КоА, влияющего на активность 3-кетואцил-КоА-тиолазы;
- посттрансляционной модификации ферментов, окисляющих СЖК;
- транскрипционной регуляции экспрессии ферментов, окисляющих СЖК.

У насыщенных жирных кислот каждые два атома углерода дают один ацетил-КоА, один NADH и один FADH₂ (для ненасыщенных жирных кислот каждая двойная связь и каждая гидроксильная группа будет давать на один FADH₂ меньше), что делает СЖК самым продуктивным энергетическим субстратом в отношении «количество полученного АТФ / количество использованных атомов углерода». Не менее важно и то, что катаболизм СЖК (их деградация) протекает внутри митохондрий и, следовательно, отсутствуют дополнительные затраты на митохондриальный транспорт восстанавливающих эквивалентов. Однако, следует отметить, что для катаболизма СЖК, в сравнении с любым другим энергетическим субстратом, затрачивается самое большое количество атомов кислорода и соотношение «количество полученного АТФ / количество использованных атомов кислорода» складывается не в пользу СЖК, что в условиях энергетического дефицита может лежать в основе формирования метаболического ремоделирования миокарда.

Г л ю к о з а

Глюкоза является вторым по важности энергетическим субстратом для энергообеспечения сердца, обладающим уникальными свойствами, одно из которых – способность при цитоплазматическом гликолизе обеспечивать продукцию АТФ, хоть и в небольших количествах, но без потребления кислорода. Вторая особенность – глюкоза это самый эффективный (экономный) энергетический субстрат в плане потребления кислорода.

Поступление глюкозы в кардиомиоциты из кровотока обеспечивают транспортёры глюкозы – GLUT1 и GLUT4. На внутренней поверхности клеточной мембраны кардиомиоцитов глюкоза под воздействием «фермента АТФ-зависимой D-гексоза-6-фосфотрансферазы (гексокиназы) превращается в глюкозо-6-фосфат (G6P)» [311]. Далее G6P поступает в гликолитический путь для получения пирувата, а также в пентозофосфатный путь (PPP) для получения НАДФН, последний необходим для инактивации клеточных активных форм кислорода [311]. Пируват, образующийся в результате гликолиза, может либо превращаться в

лактат, либо транспортироваться в митохондрии через митохондриальный переносчик пирувата (MPC). Большая часть пирувата превращается в ацетил-КоА с помощью пируватдегидрогеназы (PDH), а меньшее количество в оксалоацетат посредством карбоксилирования пирувата (NADH-зависимой малатдегидрогеназой или пируваткарбоксилазой) с образованием оксалоацетата, который играет важную роль в анаплерозе (акт пополнения промежуточных звеньев цикла Кребса). Затем ацетил-КоА подвергается дальнейшему метаболизму в цикле Кребса. PDH активируется посредством дефосфорилирования PDH-фосфатазой и ингибируется PDH-киназой (PDK), в свою очередь активируемой повышенными соотношениями ацетил-КоА / КоА и НАДН / НАД⁺ [179].

Ещё нужно отметить, что в здоровом сердце инсулиновая стимуляция приводит к заметному увеличению скорости окисления глюкозы, но при этом не вызывает существенных изменений в гликолизе [176,224]. Кроме этого, прямая инсулин-опосредованная стимуляция окисления глюкозы активирует митохондриальной PDH – основной митохондриальный мультиферментный комплекс, который обеспечивает взаимосвязь между гликолизом и циклом Кребса [247,290]. Митохондриальная транслокация протеинкиназы-В (Akt) также участвует в модулировании окислительного фосфорилирования. О ключевой роли митохондриальной Akt в инсулин-опосредованной стимуляции окисления глюкозы можно говорить, опираясь на результаты исследования в котором ингибирование митохондриального Akt полностью устраняло прямую стимуляцию инсулином окисления глюкозы [176]. Инсулин также непосредственно ингибирует окисление СЖК, устраняя ингибирующий эффект 5' аденозинмонофосфат-активированной протеинкиназы (5'-АМПК) на ацетил-КоА карбоксилазу (ACC), посредством которой увеличивается пул малонил-КоА (ингибитора захвата СЖК митохондриями) [103]. Кроме того, инсулин-опосредованное окисление глюкозы может подавлять окисление СЖК путём активации цикла Рэндла (рисунок 1.3) [260].

Известно, что скорость окисления глюкозы и скорость β -окисления СЖК взаимосвязаны и могут регулировать друг друга с помощью так называемого «цикла Рэндла» [260]. Цикл Рэндла – это биохимический феномен, при котором в случае избыточного накопления ацетил-КоА в результате β -окисления СЖК этот кофермент непосредственно ингибирует комплекс PDH, а также транспортируется в цитозоль, где превращается в цитрат, который, как известно, является негативным регулятором гликолитического фермента фосфофруктокиназы. И, наоборот, когда метаболизм углеводов усиливается, цитрат из цикла трикарбоновой кислоты транспортируется в цитоплазму, где он превращается в ацетил-КоА, а затем в малонил-КоА, который блокирует СРТ1, что, в свою очередь, уменьшает интенсивность метаболизма СЖК.

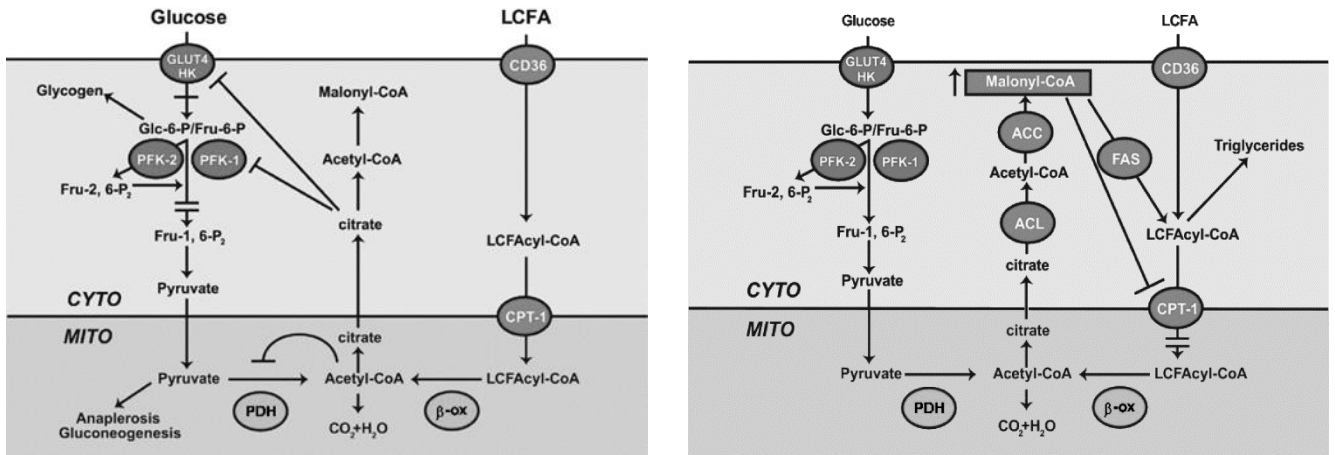


Рисунок 1.3 – Цикл Рэндла: механизмы взаимного регулирования метаболизма глюкозы и СЖК (объяснение в тексте) [163]

Примечание – CYTO – цитозоль; MITO – митохондрии; GLUT4 – переносчик глюкозы 4; НК – гексокиназа; Glc-6-P – глюкозо-6-фосфат; Fru-6-P – фруктозо-6-фосфат; CPT I – карнитинпальмитоилтрансфераза I; β -ox – β -окисление СЖК; PDH – пируватдегидрогеназа; PFK – 6-фосфофрукто-1-киназа; ACL – АТФ-цитратлиаза; FAS – синтаза жирных кислот.

Лактат

Лактат также является важным энергетическим субстратом для сердца, например в условиях ишемии миокарда, когда он в определённой мере «замещает» СЖК в энергообеспечении кардиомиоцитов, возможно за счёт подавления активности фермента тиокиназы [2,235,316]. Лактат поступает в сердце через переносчик монокарбонных анионов (МСТ4), а затем посредством лактатдегидрогеназы (LDH) превращается в пируват, который повторяет путь уже описанный выше (см. страницу 16-17). Недавние исследования показали, что лактат при определённых условиях может служить основным источником пирувата в сердце, обладает сигнальными свойствами, и включаться в цикл Кребса независимо от пирувата [75,81,86,164].

Кетоновые тела

К кетоновым телам относятся ацетоацетат, β -гидроксибутират (синоним 3-гидроксибутират) и ацетон. В здоровом сердце вклад кетоновых тел как энергетического субстрата в метаболизм не столь велик в сравнении с СЖК и глюкозой. Однако, учитывая метаболическую гибкость миокарда, кардиомиоциты при определённых условиях, например при повышении уровня циркулирующих кетонов, увеличивают утилизацию кетоновых тел, (преимущественно β -гидроксибутирата (β -ОНВ)) [83,158].

Кровоток насыщается кетоновыми телами, поступающими из печени, где они образуются из ацетил-КоА, главным образом, в результате катаболизма СЖК. Из кровеносного русла переносу β -ОНВ в цитоплазму клетки способствует транспортёр монокарбоксилата (МСТ),

кодируемый геном SLC16A1. Затем β -ОНВ транспортируется в митохондрии, где его окисление до ацетоацетата катализируется β -гидроксibuтиратдегидрогеназой-1 (BDH1). Далее ацетоацетат активируется сукцинил-КоА:3-оксокислоты-КоА-трансферазой (КоА-трансферазой SCOT) с образованием ацетоацетата-КоА, который вступает в реакцию тиолиза с образованием ацетил-КоА доступного для включения в цикл Кребса. «Окисление одной молекулы β -гидроксibuтирата до CO_2 и H_2O обеспечивает синтез 27 молекул АТФ» [177].

С точки зрения потребления кислорода для производства АТФ кетоны стоят между СЖК и глюкозой. При катаболизме кетонов образуется больше энергии, чем в случае с глюкозой, но и расход кислорода для окисления кетонов также больше, чем при окислении глюкозы.

Аминокислоты с разветвлённой цепью (ВСАА)

В нормальных физиологических условиях вклад (окисление) ВСАА (валин, лейцин, изолейцин) в энергообеспечение миокарда, по данным разных источников, не превышает 2-5%, несмотря на то, что в сердце (по сравнению с другими органами) вырабатывается максимальное количество ферментов, необходимых для катаболизма ВСАА [197]. После переноса ВСАА специфическими мембранными белками-переносчиками в матриксе митохондрий происходит первый этап их катаболизма – обратимый процесс переаминирования, регулируемый митохондриальной аминотрансферазой аминокислот с разветвлённой цепью (BCATm или BCAT2). В результате этого этапа ВСАА превращаются в α -кетокислоты с разветвлённой цепью (ВСКА): 2-кетоизокапроат (КИС), 2-кето-3-метилвалерат (КМВ), 2-кетоизовалерат (КИВ) из лейцина, изолейцина и валина, соответственно. Второй этап катаболизма ВСАА представляет собой необратимое окислительное декарбоксилирование α -кетокислот до их соответствующих эфиров ацил-КоА с разветвлённой цепью, CO_2 и NADH. В результате этого процесса углеродные скелеты КИС, КМВ и КИВ превращаются в изовалерил-КоА, 2-метилбутирил-КоА и изобутирил-КоА соответственно. Эта реакция катализируется α -кетокислотдегидрогеназой с разветвлённой цепью (BCKD). Третий этап катаболизма ВСАА, приводящий к выработке АТФ индивидуален для каждой аминокислоты. «При катаболизме КИС образуются ацетил-КоА и ацетоацетат; таким образом, лейцин считается кетогенной аминокислотой. КИВ катаболизируется до сукцинил-КоА, классифицируя валин как глюкогенную аминокислоту. Изолейцин считается как глюкогенным, так и кетогенным, поскольку при расщеплении КМВ образуются сукцинил-КоА и ацетил-КоА. Образовавшийся ацетил-КоА включается в цикл Кребса» [96]. Однако следует учитывать, что в условиях патологии миокарда ВСАА могут оказывать определённое негативное влияние на метаболизм кардиомиоцитов (см. ниже, страница 27).

Таким образом, согласно современным представлениям, в нормальных физиологических условиях для своего энергообеспечения кардиомиоциты могут привлекать целый ряд донаторов энергии – СЖК, глюкозу, лактат кетоновые тела и ВСАА. Однако, в ходе эволюции СЖК, β -окисление которых обеспечивает до 70% от всего синтезированного АТФ, стали основным энергетическим субстратом, необходимым для поддержания адекватной сократительной функции миокарда.

1.1.2 Метаболизм энергетических субстратов в повреждённом миокарде

Метаболическое ремоделирование сердца

Ремоделирование сердца рассматривают или как физиологический адаптивный процесс, например, как ответ на динамически возрастающую физическую нагрузку, или как патологический процесс, вызванный воспалением, ишемией, избыточной постнагрузкой на миокард и т.д.

Исторически, согласно определению Oprič S., под патологическим ремоделированием сердца понимают «структурно-геометрические изменения левого желудочка, включающие в себя процессы гипертрофии миокарда и дилатации камер сердца, приводящие к изменению его геометрии и нарушению систолической и диастолической функции» [248]. Однако, по мере развития представлений о патогенезе патологического ремоделирования сердца стало ясно, что в его основе лежат самые разнообразные процессы. В настоящее время выделяют несколько видов патологического ремоделирования сердца:

- «классическое» – гипертрофия миокарда и дилатация камер сердца, инициируемые механическими факторами, например, увеличение постнагрузки на миокард;
- электрическое ремоделирование миокарда – изменение электрофизиологических свойств миокарда в ответ на изменение скорости или последовательности активации желудочков, приводящее к стойким изменениям гетерогенности реполяризации и, в отличие от предсердий, к увеличению продолжительности потенциала действия [84,201];
- субклеточное ремоделирование миокарда, инициируемое окислительным стрессом, перегрузкой кардиомиоцитов ионами Ca^{2+} , активацией протеаз и фосфолипаз, а также нарушением экспрессии генов, приводящим к изменениям в биохимическом составе, молекулярной структуре и функции различных субклеточных органелл [54,94];
- коллаген-индуцированное ремоделирование миокарда – деградация коллагена или увеличение его концентрации, утолщение существующего фибриллярного коллагена и добавление нового коллагена на всех уровнях матрицы, влекущее за собой изменение пассивных механических свойств миокарда, не зависящих от сопутствующего ремоделирования кардиомиоцитов [169,273];

– метаболическое ремоделирование миокарда.

Термин «метаболическое ремоделирование миокарда» предложил в 2004 году голландский физиолог Марк ван Билсен (van Bilsen M.). Под этим термином автор подразумевал метаболические сдвиги, «происходящие в миокарде при хронической сердечной недостаточности, которые характеризуются изменениями в функции митохондрий, приводящих к заметному смещению предпочтения энергетических субстратов от жирных кислот в сторону глюкозы» [68]. Помимо этого, van Bilsen M. высказал предположение, что несмотря на традиционную направленность стратегии метаболической терапии в сторону «снижения утилизации СЖК, сопутствующее этому повышение скорости гликолиза можно рассматривать как адаптивную реакцию, ослабляющую нарушения Ca^{2+} -гомеостаза, связанного с патологией сердца» [314].

Метаболическое ремоделирование миокарда включает в себя, такой феномен как утрата кардиомиоцитами метаболической «гибкости» в использовании энергетических субстратов протекающий параллельно с накоплением в кардиомиоцитах токсичных промежуточных продуктов метаболизма СЖК пагубно влияющих на функцию сердца (более подробно будет рассмотрено ниже). Недоокисленные СЖК накапливающиеся в миокарде негативно влияют на базовые внутриклеточные процессы, такие как наработка макроэргов в митохондриях, их антиоксидантная активность, электро-механическое сопряжение кардиомиоцитов, сбалансированность потоков ионов Ca^{2+} и др.

Хорошо известно, что нарушение обмена ионов Ca^{2+} тесно связано с митохондриальной дисфункцией, возникающей, при не адекватном энергообеспечении сердечной мышцы [244]. Недостаточная концентрация ионов Ca^{2+} снижает эффективность энергообразующей функции митохондрий, в то время как перегрузка митохондрий ионами Ca^{2+} активирует каскады приводящие к апоптозу (рисунок 1.4) [59].

Свободные жирные кислоты

β -окисление СЖК очень чувствительно к ишемии. В как следует из материалов приведённых в систематических обзорах литературы [64,97,180] развитие сердечной дисфункции сопровождается снижением скорости окисления СЖК. И хотя в повреждённом сердце окисление жирных кислот снижается, СЖК по-прежнему остаются источником образования большей части митохондриального АТФ [235]. Этот метаболический сдвиг в сторону снижения окислительной способности СЖК кардиомиоцитами, сопровождается «накоплением их недоокисленных метаболитов» [89,140,264,309], что было подтверждено как в эксперименте, так и в клинике у пациентов с декомпенсированной стадией ХСН.

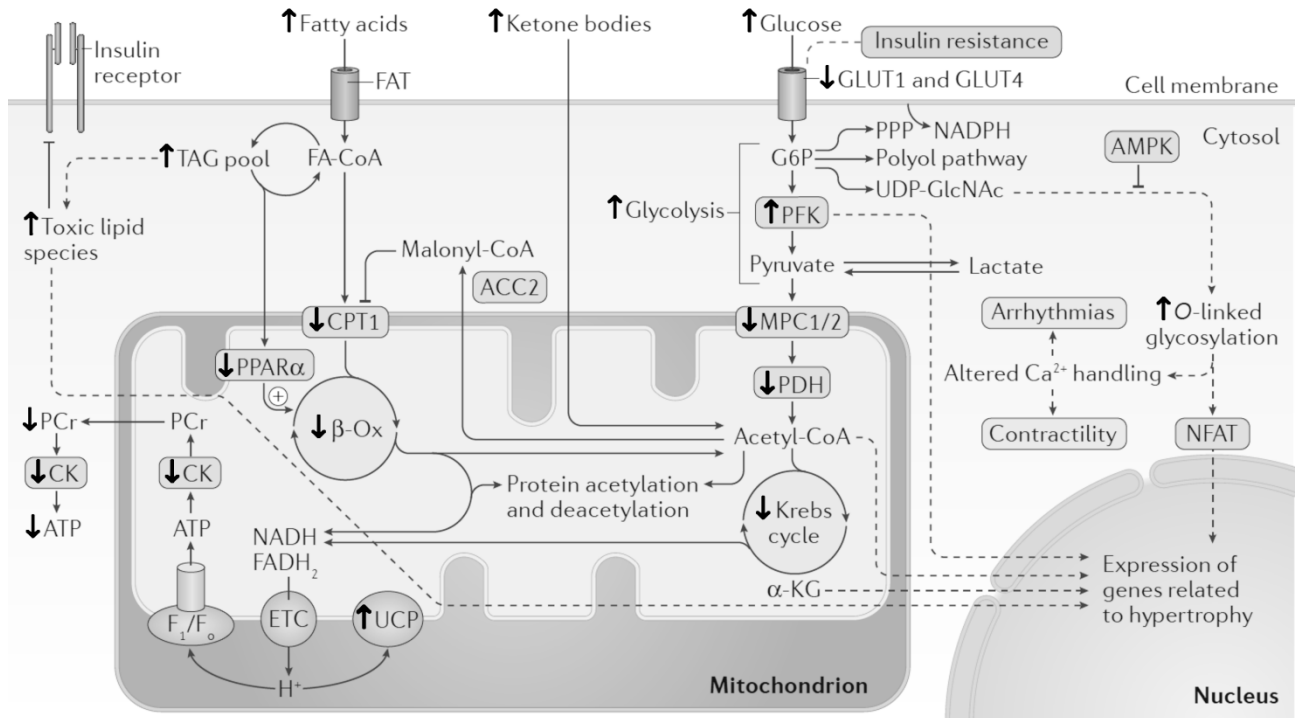


Рисунок 1.4 – Метаболическое и транскрипционное ремоделирование миокарда при патологии сердца (объяснение в тексте) [64]

Примечание – Чёрные жирные стрелки указывают на изменения, возникающие при сердечной недостаточности. Пунктирные линии соотносят метаболические интермедиаты с регуляцией экспрессии генов. α -KG – α -кетоглутарат; ACC2 – ацетил-КоА-карбоксилаза 2; AMPK – 5'AMP-активируемая протеинкиназа; β -Ox – β -окисление; CK – креатинкиназа; CPT1 – карнитин *O*-пальмитоилтрансфераза 1; ETC – электронтранспортная цепь; F_1/F_0 – F_1/F_0 АТФ синтаза; FA-CoA – жирный ацил-КоА эфир; FAT – транслоказа жирных кислот (также известная как CD36); GLUT1 – переносчик глюкозы 1 типа (SLC2A1); GLUT4 – переносчик глюкозы 4 типа (SLC2A4); G6P – глюкоза 6-фосфат; MPC 1/2 – митохондриальные переносчики пирувата 1 и 2; NFAT – ядерный фактор активированных Т клеток; PCr – фосфокреатин; PDH – пируватдегидрогеназа; PFK – АТФ-зависимая 6-фосфофруктокиназа; PPAR α – рецептор α , активируемый пролифератором пероксисом; PPP – пентозофосфатный путь; TAG – триацилглицерин; UCP – митохондриальный разобщающий белок; UDP GlcNAc – уридиндифосфат β -N-ацетилглюкозамин.

ХСН сопровождается инактивацией и снижением экспрессии рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом (PPAR α , PPAR β/δ и PPAR γ), что приводит к понижению / нарушению активности ферментов, регулирующих β -окисление СЖК, результатом чего является накопление в кардиомиоцитах недоокисленных токсических продуктов метаболизма СЖК (церамиды, диацилглицерин и др.), что влечёт за собой как развитие энергетического дефицита за счёт митохондриальной дисфункции, так и активизации проапоптотических процессов [232,252]. Патологическое накопление СЖК и их метаболитов происходит за счёт разбалансировки процессов β -окисления и интенсивностью их поглощения кардиомиоцитами, поскольку в условиях патологии снижение объёма окисления СЖК в митохондриях, не сопровождается эквивалентным снижением поступления их в кардиомиоциты. Этому способствует, как активация АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK), что в свою очередь усиливающей экспрессию сарколемного 36-го кластера дифференцировки (CD36), так и изменение активности карнитин-пальмитоилтрансферазы (CPT1), среднепочечной

ацил-КоА-дегидрогеназы (MCAD), и транспортного белка жирных кислот-1 (FATP1) [145,264,268]. Несоответствие между поглощением СЖК и их окислением приводит к внутриклеточному накоплению липидов, которые или частично накапливаются в виде триацилглицерола, или же вступают в неокислительные реакции, образуя токсичные формы липидов, такие как церамиды, КоА-эфиры жирных кислот, диацилглицерол, ацилкарнитины и др. Накопление в кардиомиоцитах токсических форм липидов ведёт к развитию митохондриальной дисфункции, апоптозу и т.д. [134,285]. В литературе повреждающее действие высоких внутриклеточных концентраций СЖК и их метаболитов как правило, обозначают термином «липотоксичность».

Липотоксичность в сердце проявляется в следующих патологических изменениях:

- В разобщении процессов окисления и фосфорилирования в электронно-транспортной цепочке митохондрий и, как следствие этого, снижение скорости синтеза АТФ [64,185,307];
- В усилении образования АФК за счёт опосредованно усиления активности НАДФН-оксидазы (NOX2) инициируемой протеинкиназой-С (PKC) [173];
- В повышении «проницаемости клеточной мембраны для ионов Na^+ » [46], что влечёт за собой повышение его концентрации в цитоплазме, приводящее к избыточному выбросу ионов Ca^{2+} из митохондрий и, как следствие этого, «усиление метаболической дисрегуляции» [46];
- В нарушении в кардиомиоцитах «гомеостаза ионов Ca^{2+} и, следовательно, нарушении процессов электромеханического сопряжения кардиомиоцитов» [64], например за счёт «усиления высвобождения ионов Ca^{2+} из цистерн SR, что в свою очередь может снижать способность митохондрий "захватывать" ионы Ca^{2+} » [256];
- В активации внутриклеточных каскадов «приводящих к аутофагии и апоптозу кардиомиоцитов» [281];
- В инициации церамидом в эндотелиальных клетках сосудов «биосинтеза *de novo* протеинфосфатазой 2А» [237,344] (PP2A) которая подавляет фосфорилирование eNOS, что в свою очередь понижает продукцию оксида азота (NO) и как следствие этого стимулирует развитие эндотелиальной дисфункции [237,344];
- В активации внутриклеточных сигнальных каскадов приводящих к гипертрофии и ремоделированию миокарда [243].

Помимо этого, внутриклеточное накопление метаболитов СЖК способствует развитию резистентности к инсулину путём снижения стимулируемого инсулином фосфорилирования инсулинового рецептора-1 (IRS-1) [178].

Имеются также данные о том, что в условиях ишемии миокарда нарушение метаболизма СЖК может инициировать развитие аритмий. Известно, что пальмитоил-КоА – «активированная» форма пальмитиновой кислоты, перемещается через внутреннюю мембрану в

матрикс митохондрий, специфичным для него транспортёром карнитин-пальмитоил-трансферазой (CPT1). Для перемещения через внутреннюю мембрану митохондрий происходит переэтерификация пальм-СЖК из пальмитоил-КоА в пальмитоил-карнитин (PC), который в матриксе вновь превращается в пальмитоил-КоА [34]. В условиях патологии содержание пальмитоил-КоА в матриксе митохондрий повышается и он «ингибирует активность транслоказы адениннуклеотидов (транслоказа АДФ/АТФ, ANT), не оказывая при этом прямого влияния на другие ферменты, участвующие в процессе окислительного фосфорилирования» [82]. Подавление активности ANT в конечном итоге приводит к снижению активности АТФ-синтазы, что, в свою очередь, увеличивает продукцию митохондриальных АФК [56].

Среди потенциальных внутриклеточных мишеней АФК значительное место занимают Ca^{2+} регулирующие белки, которые особенно чувствительны к редокс-модуляции [350]. К такого рода белкам в первую очередь относятся трансмембранные рианодиновые Ca^{2+} -регулирующие рецепторы (RyR2), являющиеся самыми большими из известных ионных каналов [245]. RyR2 очень чувствительны к редокс-модуляции, поскольку содержат в каждом из 4-х мономеров канала по 89 остатков цистеина, сульфгидрильное окисление или S-нитрозилирование которых активирует трансмембранный канал [107]. Показано, что количество окисленных и/или S-нитрозилированных остатков цистеина напрямую влияют на проводимость канала [51]. Окисление $\approx 25\%$ остатков цистеина сопровождается необратимой активацией RyR2 [335], что провоцирует увеличение «диастолической утечки ионов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума» [135]. Аномальная диастолическая утечка ионов Ca^{2+} , дестабилизируя мембранный потенциал покоя, инициирует формирование эктопических потенциалов действия, т.е. инициирует нарушение сердечного ритма [257]. Показано, что блокада активности ANT в значительной мере снижает патологическое воздействие пальмитоил-КоА на RyR2 [265]. Авторы этого исследования полагают, что полученные ими данные «демонстрируют прямую взаимосвязь между дисфункцией ANT, выработкой АФК и патологической активацией RyR2».

Г л ю к о з а

В условиях патологии миокарда глюкоза является ценным энергетическим субстратом, учитывая более экономное использование кислорода при окислении, чем СЖК и способность её метаболитов участвовать в анаплерозе. Сдвиг в сторону утилизации глюкозы повышает эффективность работы энергообеспечения миокарда за счёт производства большего количества АТФ на молекулу потреблённого O_2 , а именно 6,3 моль АТФ на моль O_2 . В настоящее время накоплены достаточно убедительные данные о том, что переключение энергетического обеспечения миокарда с β -окисления СЖК на окисление глюкозы в условиях

кислород-дефицитных состояний, особенно в условиях ишемия / реперфузия, является важным компенсаторным механизмом, позволяющим поддерживать функциональную активность сердечной мышцы [122,251,284]. Полагают, что «стратегии, которые усиливают поглощение глюкозы миокардом, представляют собой многообещающий подход к лечению ишемической болезни сердца» [106].

Считается, что ключевую роль в увеличении поглощения глюкозы и скорости гликолиза в миокарде играет аденозинмонофосфатная протеинкиназа (АМРК). Длительная активность АМРК снижает утилизацию СЖК жирных кислот за счёт снижения экспрессии ферментов СРТ-1 и МСАД, что в свою очередь ведёт к транслокации транспортёров глюкозы GLUT1 на плазматической мембране и усиленному поглощению глюкозу. АМРК оказывает стимулирующее влияние на фосфофруктокиназу 2 (PFK2), которая генерирует фруктозо-2,6-дифосфат, действующий как мощный аллостерический стимулятор фермента, ограничивающего скорость, PFK1 [44,240].

В условиях ишемии миокарда снижается аэробное окисление глюкозы и ключевым источником энергии в кардиомиоцитах становится анаэробный гликолиз, который для синтеза АТФ использует внутриклеточные запасы гликогена. Однако, если ишемический инцидент затягивается, запасы гликогена истощаются и анаэробный гликолиз поддерживается за счёт поступления внеклеточной глюкозы. В миокарде транспорт глюкозы осуществляются белками-переносчиками GLUT1 и GLUT4. При этом интегральные мембранные белки GLUT-1 экспрессируются преимущественно в эндотелии сердечных капилляров, тогда как большая часть интегральных мембранных белков GLUT-4 экспрессируется в сократительных кардиомиоцитах [88,217]. Показано, что белки GLUT1 осуществляют транспортировку глюкозы из капиллярного русла в межклеточное пространство миокарда, а белки GLUT-4 транспортируют глюкозу в цитозоль кардиомиоцитов [88]. В условиях ишемии, экспрессия белков GLUT1 и GLUT4 существенно возрастает, что способствует увеличению содержания глюкозы в кардиомиоцитах и улучшает их энергетический статус [259,296].

Показано, что в условиях ишемии миокарда транслокация GLUT4 к мембране кардиомиоцитов и последующее за этим усиление поглощения ими глюкозы способствует уменьшению (на 40%; $p < 0.05$) площади экспериментального инфаркта миокарда [322]. Близкие результаты получены и в других исследованиях [312].

Известно, что пируватдегидрогеназа (PDH) играет ключевую роль в аэробном энергетическом метаболизме и занимает центральное место «на перекрёстке» между гликолизом и циклом трикарбоновых кислот. Показано, что в условиях ишемии активация PDH, опосредованная дихлорацетатом натрия (структурный аналог пирувата), значительно усиливает транслокацию GLUT4 на поверхность клеток и увеличивает поглощение глюкозы

кардиомиоцитами [294]. Например, в экспериментах на трансгенных мышах, с нарушенным поглощением глюкозы клетками миокарда или нарушенным окислением пирувата, «развивалась гипертрофия левого желудочка, в то время как у мышей с делецией GLUT4 или PDH, развивалась диастолическая или систолическая дисфункция» [43,294], соответственно.

Компенсаторного усиления гликолиза, конечно же, недостаточно для полноценного восполнения дефицита АТФ, в условиях неадекватного поступления кислорода, однако, связанное с этим усиление потоков пирувата и лактата повышает их доступность для участия в не окислительных путях, направленных на поддержание гомеостаза клетки. Например, наблюдаемое в повреждённом миокарде усиление реакции восстановительного карбоксилирования пирувата, за счёт экспрессии фермента яблочной кислоты, обеспечивает анаплероз в митохондриях и поддержание уровня восстановленного глутатиона, играющего важную роль в окислительно-восстановительном гомеостазе [186].

Таким образом, уменьшение β -окисления СЖК в пользу усиления гликолиза будет эффективно для сердца до тех пор, пока пируват может быть окислен. Однако, по мере прогрессирования патологического процесса и переходе метаболического ремоделирования к некомпенсированному состоянию, не смотря на то, что наблюдается увеличение количества гликолитических ферментов, скорость окисления глюкозы уменьшается и в миокарде начинает накапливаться лактат [317].

Таким образом, увеличение поступления глюкозы в кардиомиоциты и стимуляция ее окисления с целью усиления компенсаторных резервов кардиомиоцита, в условиях метаболического ремоделирования, можно рассматривать как один из возможных подходов к защите миокарда от ишемического повреждения.

Кетоновые тела

В условиях патологии миокарда вклад кетоновых тел в наработку АТФ значительно возрастает [52,157,208]. В экспериментах на животных, у которых компенсированную гипертрофию левого желудочка сердца вызывали путём коарктации аорты, продемонстрировано, как усиление экспрессии β -гидроксибутиратдегидрогеназы 1 - ключевого фермента, отвечающего за окисление кетонов, так и окисления β -гидроксибутирата (β -ОНВ). В том же исследовании показано, что у мышей с декомпенсированной постинфарктной ХСН происходит дальнейшее увеличение окисления β -ОНВ, а также усиление экспрессии гена SLC16A1, кодирующего мембранный белок переносчик монокарбоксилата-1 ответственный за поглощение кетонов миокардом. Помимо этого, у этих животных отмечено снижение экспрессии генов, ответственных за процесс окисления СЖК. Напротив, у нокаутных мышей, по

специфичной для кардиомиоцитов КоА-трансферазе SCOT, активирующей окисление кетонов в митохондриях (см. выше), наблюдается повышение уровня окисления СЖК [52].

Таким образом, можно говорить о том, что усиление поглощения кетоновых тел и повышение их вклада в энергообеспечение кардиомиоцитов является одним из компонентов «метаболического ремоделирования» миокарда, развивающегося при хронической сердечной патологии. Вероятно, также как и в случае с глюкозой, увеличение использования кардиомиоцитами кетоновых тел в качестве энергетического субстрата можно рассматривать как базовый эволюционно сформировавшийся механизм, направленный на поддержание функциональной активности сердца в условиях дефицита кислорода [235].

Аминокислоты с разветвлённой цепью

Вклад ВСАА в метаболическое ремоделирование миокарда до настоящего времени остаётся до конца не ясным. С одной стороны, имеются данные о том, что ВСАА в условиях ишемии / реперфузии оказывают выраженное кардиопротективное действие, во многом связанное с активацией mTOR [233,272]. С другой стороны, сообщается, что ВСАА оказывают негативное влияние на функциональную активность миокарда в условиях ишемия/ реперфузия, возможно, за счёт повышения транскрипционной регуляции α -рецептора, активируемого пролиферацией пероксисом (PPAR- α), что влечёт за собой накопление в миокарде недоокисленных продуктов метаболизма СЖК [197,199].

Также показано, что «накопление ВСАА в кардиомиоцитах способствует развитию гипертрофии миокарда посредством активации mTORC1, а стимуляция окисления ВСАА или ингибирование mTORC1 рапамицином предотвращало увеличение размеров сердца» [238,293]. У мышей с экспериментальным инфарктом миокарда было показано, что вследствие нарушения катаболизм ВСАА, их содержание в сердечной мышце значительно повышено, что усугубляло сердечную дисфункцию и степень постинфарктного ремоделирования левого желудочка [324].

1.1.3 Фармакологическая коррекция нарушений метаболизма миокарда – миокардиальная цитопротекция

На современном этапе накоплены достаточно убедительные данные, раскрывающие сущность метаболических нарушений в кардиомиоцитах в условиях неадекватного кровоснабжения и свидетельствующие о том, что оптимизация энергетического метаболизма миокарда предоставляет большие возможности в плане защиты сердечной мышцы от ишемических повреждений путем модификации метаболизма кардиомиоцитов посредством применения лекарственных средств, обеспечивающих использование меньшего количества кислорода на одну единицу образуемого АТФ. Другими словами, понимание механизмов,

лежащих в основе метаболического ремоделирования миокарда, «открыло возможность для создания нового направления медикаментозного воздействия на ишемизированный миокард – миокардиальную цитопротекцию» [32]. Под миокардиальной цитопротекцией понимают фармакологическое пособие, непосредственно направленное на энергетический обмен кардиомиоцитов с целью изменения их метаболизма, позволяющее оптимизировать использование кислорода ишемизированным миокардом посредством стимуляции внутриклеточного обмена глюкозы и/или других доступных энергетических субстратов на фоне подавления/оптимизации метаболизма СЖК (рисунок 1.5).

Попытки создания миокардиальных цитопротекторов начались в 60-х годах XX века, когда в клиническую практику были внедрены такие лекарственные средства как АТФ, инозин Ф, глио-сиз, цитомак и.д. Однако надежды, связанные с применением этих препаратов, не оправдались. Повторный интерес к этой проблеме возник после успешного внедрения в

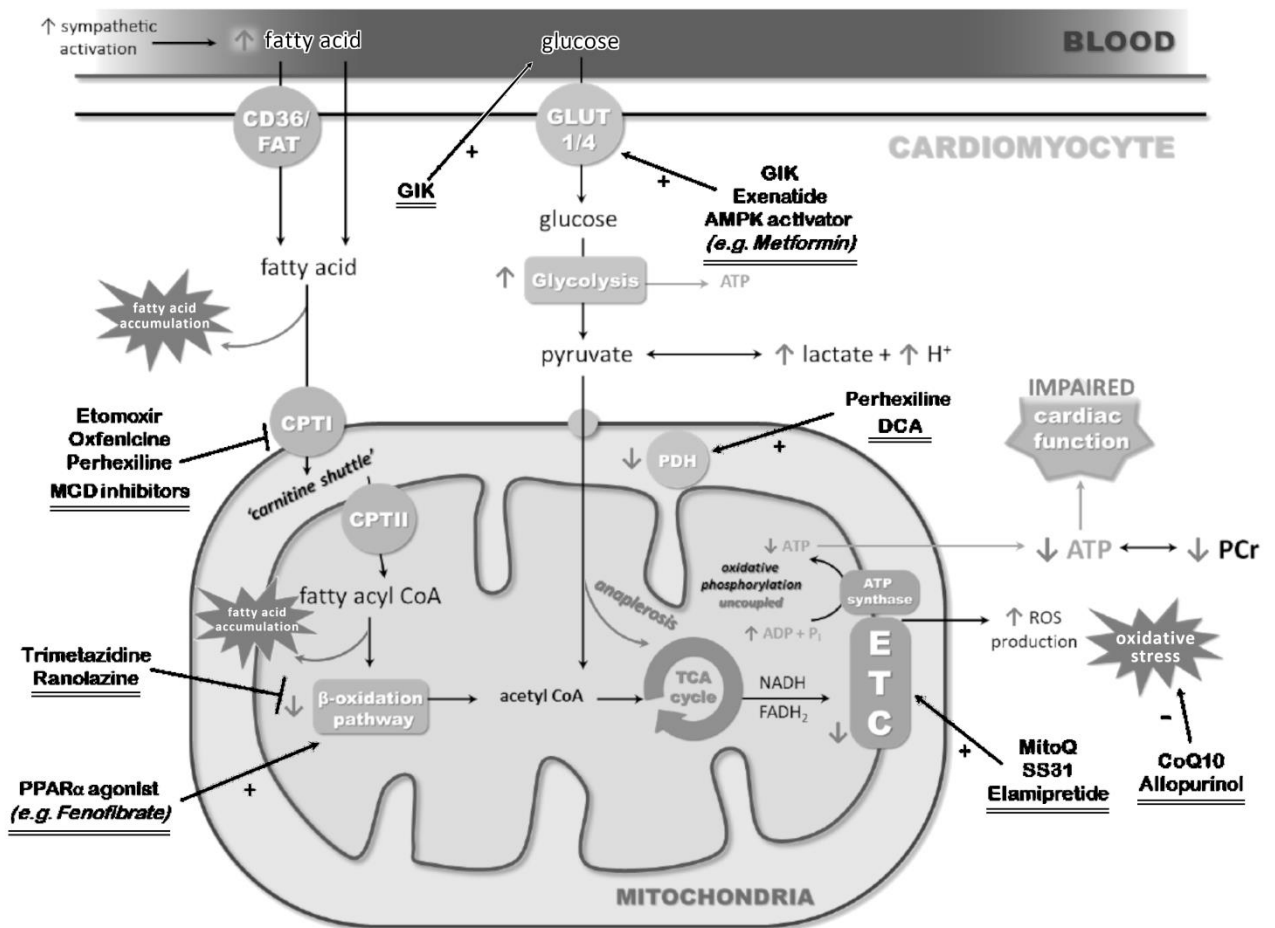


Рисунок 1.5 – Фармакологические мишени ряда миокардиальных цитопротекторов (объяснение в тексте) [243]

Примечание – АДФ – аденозиндифосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; КоА – кофермент-А; СоQ10 – коэнзим Q10; CPT – карнитинпальмитоилтрансфераза; DCA – дихлорацетат; ETC – электрон-транспортная цепь; FADH2 – флавинадениндинуклеотид; FAT – транслоказа жирных кислот; GIK – глюкоза-инсулин-калиевая смесь; GLUT – переносчик глюкозы; H⁺ – ион водорода; MCD – малонил-КоА-декарбоксилаза; PCr – фосфокреатин; Pi – неорганический фосфат; PDH – пируватдегидрогеназа; TCA – трикарбоновая кислота; ROS – активные формы кислорода.

клиническую практику триметазидина, механизм действия которого связан с блокадой 4-го этапа β -окисления СЖК. В настоящее время к миокардиальным цитопротекторам относятся лекарственные средства, крайне неоднородные по своему механизму действия и являющиеся представителями различных химических классов, объединённые способностью оптимизировать образование и расход энергии в ишемизированных кардиомиоцитах, в том числе модулировать функцию дыхательной цепи и соблюдать баланс между интенсивностью процессов свободно-радикального окисления и системы антиоксидантной защиты.

Единой классификации миокардиальных цитопротекторов не существует. Так, например, Ю.Н. Беленков предлагает их квалифицировать по особенностям механизма действия:

- «1. Регуляторы поступления субстратов в кардиомиоциты (глюкозо-инсулино-калиевая смесь).
2. Ингибиторы карнитин-пальмитоилтрансферазы (пергексиллин, этомоксир, оксфеницин, аминокарнитин).
3. Ингибиторы β -окисления жирных кислот (триметазидин, ранолазин).
4. Стимуляторы пируватдегидрогеназы (дихлорацетат, левокарнитин).
5. Препараты с прочими механизмами действия (кокарбоксилаза, инозин, фосфокреатин, мельдоний, милдронат)» [13].

В.П. Михин предлагает классификацию миокардиальных цитопротекторов по точке приложения фармакологического эффекта:

- «1. Внутримитохондриальные цитопротекторы.
 - 1.1. Торможение окисления жирных кислот:
 - подавление бета окисления жирных кислот (триметазидин);
 - подавление транспорта жирных кислот в митохондрии (мельдоний).
 - 1.2. Прямая стимуляция окисления глюкозы (сукцинат 2-этил 6-метил 3-оксипиридина).
 - 1.3. Стимуляция цитохромной цепи (коэнзим Q10).
2. Транспорт энергетического субстрата в митохондрии (фосфокреатин, глюкозоинсулиновая смесь (малоэффективна), янтарная кислота).
3. Стимуляция анаэробного гликолиза (тиатриазолин) – препараты недостаточно разработаны и малоэффективны.
4. Антиоксиданты и митохондриальные цитопротекторы, обладающие антиоксидантными свойствами» [19].

Обе эти классификации правомочны, однако не учитывают вновь разрабатываемые, на основе современных представлений о патогенезе метаболического ремоделирования миокарда, потенциальные лекарственные средства.

В настоящем обзоре мы будем преимущественно опираться на классификацию миокардиальных цитопротекторов, основанную на их механизме действия (рисунок 1.5).

Лекарственные средства, осуществляющие транспорт энергетических субстратов в митохондрии

- ***Глюкозо-инсулин-калиевая смесь (поляризирующая смесь, ГИК).***

С момента первого применения ГИК у пациентов с ишемической болезнью сердца (в 1962 году) «прошло уже 60 лет. На первом этапе (70-е – 90-е годы XX века) результаты применения ГИК у пациентов с острым инфарктом миокарда свидетельствовали в пользу её применения» [289]. Вместе с тем, после публикации материалов крупного рандомизированного плацебо-Контролируемого исследования, свидетельствовавших об неэффективности такого рода терапии, интерес к ГИК резко снизился [228]. Однако, в последнее время интерес к ГИК возвращается, в связи с пересмотром схем и сроков её применения у пациентов с острым коронарным синдромом [310].

Кардиопротективное действие ГИК при ишемии миокарда связывают с её способностью понижать уровень циркулирующих в плазме крови СЖК, поддерживать высокие показатели гликолиза, нормализовать митохондриальный метаболизм путем подавления активности СРТ-1 [139].

- ***Фосфокреатин.***

Фосфокреатин, открытый Fiske P. в 1927 году, стал первым известным соединением, несущим макроэргическую фосфатную связь [118]. Показано, что фосфокреатин является лимитирующим фактором мышечного сокращения: «митохондриальная креатинкиназа и адениннуклеотидтранслоказа представляют собой функциональную мультиферментную трансфосфорилирующую систему, осуществляющую перенос энергии с митохондриального матрикса в цитоплазму кардиомиоцитов в форме фосфокреатина» [26]. В основе кардиопротективного действия фосфокреатина (препарат неотон) лежит его цвиттер-ионное взаимодействие, стабилизирующее фосфобилипидный слой сарколеммы кардиомиоцитов, и оптимизация энергообразующей функции митохондрий [21]. Согласно результатам крупного мета-анализа (3400 пациентов и 22 исследования) применение неотона у пациентов с инфарктом миокарда статистически значимо снижает количество летальных исходов [188]. В 2022 году были опубликованы результаты системного анализа литературы, посвящённого клинической эффективности препарата неотон у пациентов с ишемической болезнью сердца, позволившие авторам прийти к заключению, что «учитывая проведённый анализ данных, представленные данные указывают на перспективность использования фосфокреатина в схеме лечения нарушений сердечного ритма и сердечной недостаточности на фоне ишемии миокарда и устранения последствий реперфузионного повреждения и ремоделирования миокарда» [319].

Стимуляторы цитохромной цепи

- **Уидекаренон.**

Уидекаренон (коэнзим Q10, убихинон) является звеном в цепи переноса электронов с NADH-дегидрогеназного комплекса (комплекс I) и сукцинатдегидрогеназного комплекса (II) на убихинол-цитохром C-оксидоредуктазу (комплекс III) и тем самым участвует в синтезе АТФ.

В организме человека эндогенный коэнзим Q10 синтезируется из мевалоновой кислоты и продуктов обмена аминокислот фенилаланина и тирозина.

Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что экзогенный коэнзим Q10 обладает кардиопротективной активностью. Так, например, согласно результатам метаанализа экспериментальных исследований, посвящённых изучению влияния коэнзима Q10 на размер инфаркта миокарда в условиях ишемии/реперфузия, показано, что препарат статистически значимо, на 11,36%, уменьшил размер инфаркта миокарда [53]. Следует отметить, что этот кардиопротективный эффект коэнзима Q10 наблюдался только в экспериментах на крысах и хомяках, тогда как в опытах на кроликах уменьшение площади инфаркта миокарда было незначительным – 5,29%. Кардиопротективную активность коэнзима Q10 связывают с его способностью: повышать в ишемизированном миокарде уровень супероксиддисмутазы и глутатиона и подавлять перекисное окисление липидов, т.е. оказывать антиоксидантное действие; увеличивать количество белков, играющих ключевую роль в регуляции аутофагии, таких как Atg5, беклин-1, и увеличивать соотношение LC-3II / LC3-I; снижать уровень проапоптотического белка p53 [200]. К сожалению, экспериментальные данные о наличии у коэнзима Q10 кардиопротективной активности не нашли своего клинического подтверждения. Согласно результатам Кокрейновского обзора, опубликованного в 2021 году, в котором были проанализированы результаты 11 клинических исследований (1573 участников) «в настоящее время нет убедительных доказательств, подтверждающих или опровергающих целесообразность использования коэнзима Q10 при сердечной недостаточности» [48]. Результаты этого анализа подтверждают ранее полученные данные о том, что в настоящее время нет убедительных доказательств эффективности коэнзима Q10 у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Как полагают авторы исследования, «для определения влияния коэнзима Q10 на сердечно-сосудистые события необходимы дальнейшие высококачественные исследования» [120].

Кетоновые тела как донаторы энергии в условиях дефицита кислорода

Как уже было отмечено выше, в нормальных физиологических условиях вклад кетоновых тел в энергообеспечение кардиомиоцитов невелик, однако в условиях дефицита кислорода их

роль как донатора энергии существенно возрастает. Также следует отметить, что уровень поглощения кетоновых тел кардиомиоцитами прямо пропорционален их концентрациям, циркулирующим в плазме крови [235]. Именно на этом феномене основаны клинические подходы к применению кетонов в качестве донаторов энергии, что может быть достигнуто непосредственно назначением кетонов или использованием глифлозинов – ингибиторов ко-транспортёра натрия/глюкозы 2 (SGLT2).

- ***β-гидроксibuтират.***

β-гидроксibuтират или 3-гидроксibuтират является основным представителем кетоновых тел, используемых кардиомиоцитами для нужд энергообеспечения. В модельных экспериментах, воспроизводящих ХСН у собак, было показано, что непрерывная инфузия β-ОНВ со скоростью 2,5 – 5,0 мкмоль/кг/мин в течение 3 недель, по сравнению с контрольными животными, значительно уменьшала степень ремоделирования левого желудочка сердца [161]. В том же исследовании в экспериментах, выполненных на нокаутных по β-ОНВ мышах, было показано, что кетогенная диета (20% белка, 80% жира и 0,1% углеводов; Research Diets Inc., каталог D03022101), начатая за 1 неделю до воспроизведения инфаркта миокарда и продолжавшаяся в течение 4-недельного послеоперационного периода, уменьшала степень ремоделирования ЛЖ. В частности, КДО и КСО были значительно снижены в группе мышей, получавших кетогенную диету по сравнению с контрольной группой, однако различий в величине ФВ не было выявлено.

В клиническом исследовании, выполненном с участием пациентов, страдающих ХСН, показано, что инфузия β-ОНВ (0,18 г/ кг/ч) в течение 6 часов значительно ($p < 0,001$) увеличивает сердечный выброс [241]. Однако, отдалённые результаты этой терапии не известны. Отсутствие этих данных представляется важным, учитывая тот факт, что высокие концентрации β-ОНВ в плазме крови связаны с повышенным риском развития / прогрессирования ХСН [119].

- ***Глифлозины (ингибиторы натрий-глюкозного котранспортёра 2 типа (SGLT2)).***

К ингибиторам SGLT2 относится группа сахароснижающих лекарственных средств (дапаглифлозин, канаглифлозин и эмпаглифлозин), подавляющих реабсорбцию глюкозы в проксимальных канальцах почек за счёт ингибирования SGLT2. Показано, что препараты этой группы помимо понижения уровня глюкозы в плазме крови и снижения уровня гликозилированного гемоглобина у пациентов с острой или хронической сердечной недостаточностью оказывают выраженное кардиопротективное действие, значимо понижая смертность от любой причины [27,318]. Полагают, что в основе кардиопротективного действия ингибиторов SGLT2 лежит их способность модулировать энергетический обмен в кардиомиоцитах, в том числе и за счёт повышения уровня циркулирующих в плазме крови кетоновых тел [47,115]. Однако в литературе высказывается мнение о том, что кардиопротективный эффект ингибиторов SGLT2 не обязательно связан с их вмешательством в

энергообеспечение миокарда. Например, высказывается мнение о том, что «диуретический эффект эмпаглифлозина, вероятно, сыграл важную роль в улучшении сердечно-сосудистых исходов» [229]. Следует учитывать и тот факт, что в 2015 году FDA выпустило предупреждение о том, что ингибиторы SGLT2 могут увеличить риск развития диабетического кетоацидоза, вызвать серьезные инфекции мочевыводящих путей, инициировать остеопороз и повысить риск переломов костей [112,113].

Стимуляторы окисления глюкозы

Как уже было показано выше, в условиях патологии метаболизм энергетических субстратов в кардиомиоцитах существенно нарушается, в силу чего одной из перспективных стратегий, направленных на поддержание энергетического статуса миокарда, является усиление связи гликолиза с окислением глюкозы [117].

Агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (RA-GLP-1)

Лекарственные средства этой группы (дулаглутид, ликсисенатид, эксенатид) обладают сложным механизмом действия, в частности могут реализовать своё метаболическое действие путем увеличения поступления глюкозы в кардиомиоциты [117], хотя следует учитывать, что в литературе рассматриваются и другие возможные механизмы их кардиопротективной активности [8,331].

- ***Эксенатид.***

Согласно результатам ряда небольших клинических исследований, агонисты RA-GLP-1 эксенатид и лираглутид улучшают сердечную функцию у больных кардиологического профиля. Так показано, что инфузия эксенатида (первые 15 минут со скоростью 0,12 мкг/мин, затем 6 часов со скоростью 0,043 мкг/мин) пациентам с острым инфарктом миокарда способствовала статистически значимому ($p=0,015$) уменьшению площади инфаркта [209].

Рекомбинантные аналоги человеческого глюкагоноподобного пептида-1

В основе механизма действия рекомбинантных аналогов глюкагоноподобного пептида-1 (лираглутид, семаглутид) лежит их агонистическое влияние в отношении RA-GLP-1.

- ***Лираглутид.***

Короткий курс терапии лираглутидом (0,6 мг в течение 2 дней, 1,2 мг в течение 2 дней, затем 1,8 мг в течение 3 дней) у пациентов с инфарктом миокарда без подъёма сегмента ST способствовала статистически значимому ($p = 0,009$) по сравнению с контролем улучшению ФВ левого желудочка сердца [80]. Однако в литературе представлены и противоположные данные [172,218]. Так, например, применение лираглутида (в зависимости от переносимости

каждые 14 дней с 0,6 мг/сут. до 1,2 мг/сут. до 1,8 мг/сут., далее в течение 180 суток) у пациентов с ХСН и сниженной ФВ не влияло на летальность и количество повторных госпитализаций. Авторы исследования делают заключение о том, что «полученные данные не подтверждают эффективность применения лираглутида в данной клинической ситуации» [218].

В крупном рандомизированном многоцентровом международном двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании «LEADER» продемонстрировано, что терапия лираглутидом (1,8 мг/сут., п/к) в течение 3,5 лет оказывала существенное кардиопротективное действие, так, например, комбинированная первичная конечная точка исследования – летальность, по сравнению с группой плацебо была статистически значимо ниже ($p < 0,001$) [221]. Однако, если обратиться к фактическим результатам, то различия между группами лираглутид и плацебо крайне невелики – так, первичная конечная точка в группе лираглутида составляет 13% случаев, а в группе плацебо 14,9%.

Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ингибиторы DPP-4), глиптины

Препараты этой группы (алоглиптин, вилдаглиптин, гозоглиптин, ситаглиптин и др.), ингибируя DPP-4, блокируют инактивацию инкретиновых гормонов, в частности GLP-1, который, как известно, в условиях патологии существенно увеличивает захват глюкозы миокардом [242].

- ***Ситаглиптин.***

В рандомизированном двойном слепом исследовании TECOS оценивали сердечно-сосудистые эффекты ситаглиптина (50 мг/сут., не менее 1 года) у пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа и имеющих сердечно-сосудистые заболевания [137]. Авторы этого исследования делают дипломатичное заключение о том, что «добавление ситаглиптина к обычному лечению, по-видимому, не увеличивало риск серьёзных нежелательных сердечно-сосудистых событий, госпитализации по поводу сердечной недостаточности или других нежелательных явлений».

Ингибиторы киназы пируватдегидрогеназы (ингибиторы PDC-Киназы или ингибиторы PDK)

- ***Дихлорацетат.***

В литературе биологические соединения, обладающие способностью ингибировать PDK, классифицируют также как стимуляторы пируватдегидрогеназы. Представителем этого класса соединений является препарат дихлорацетат. Препарат способствует усилению активности пируватдегидрогеназы и, следовательно, ускоряет аэробный метаболизм глюкозы, пирувата и лактата в клетках миокарда. В экспериментах *in vitro* показано, что дихлорацетат вовремя

реперфузии увеличивал окисление глюкозы в 2,5 раза [299]. В экспериментах *in vivo* показано, что дихлорацетат в условиях ишемия/реперфузия значимо ($p < 0,05$) уменьшил размер инфаркта и инотропную функцию левого желудочка сердца. Согласно данным биохимических исследований, препарат значимо увеличивал ($p < 0,05$) окисление глюкозы, тогда как окисление СЖК было значительно снижено ($p < 0,05$). Методом иммуноблоттинга было продемонстрировано, что кардиопротекторная активность дихлорацетата в условиях ишемия/реперфузия была опосредована путем активации в кардиомиоцитах LKB1-АМРК сигнального пути [198].

В небольшом клиническом исследовании, выполненном с участием пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца, показано, что инфузия дихлорацетата (35 мг/кг, в/в) значимо ($p < 0,01$) увеличивает ударный объем и повышает эффективность работы миокарда [326]. Близкие результаты были получены и у пациентов застойной ХСН [63]. Однако, поскольку дихлорацетат обладает выраженной нейротоксичностью, он не нашёл применения в клинике [114].

Активаторы SIRT1

- ***Ресвератрол.***

SIRT1 представляет собой никотинамидаденозиндинуклеотид (NAD⁺) -зависимую деацетилазу, которая удаляет ацетильные группы из многих белков-мишеней, таких как гистоновые белки, факторы транскрипции и кофакторы. Полагают, что активация SIRT1 может улучшить аэробный метаболизм глюкозы и биосинтез в митохондриях и тем самым поддержать энергообеспечение ишемизированной сердечной мышцы [162]. Есть основания полагать, что кардиопротективное действие активаторов SIRT1 не ограничивается улучшением метаболизма глюкозы и оптимизацией биосинтеза в митохондриях, поскольку показано, что активатор SIRT1 полифенол ресвератрол реализует своё кардиопротективное действие путем активации SIRT1 и последующим деацелированием гамма-Коактиватора-1 α рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (PGC-1 α) [110]. Известно, что PGC-1 α играет одну из ключевых ролей в метаболизме энергии в миокарде, индуцируя транскрипцию PPAR α , биогенез митохондрий и активацию окисления не только глюкозы, но и СЖК [23].

- ***Гинзенозид-Rc.***

В январе 2023 года были опубликованы результаты изучения кардиопротективной активности агониста SIRT1, соединения гинзенозид-Rc [337]. Как следует из полученных данных, гинзенозид-Rc в условиях ишемия/реперфузия улучшал сердечную функцию, уменьшал размер инфаркта миокарда, снижал уровень апоптоза кардиомиоцитов и способствовал

ослаблению окислительного повреждения митохондрий, а в плазме крови понижал уровни креатинкиназы-МВ, сердечного тропонина I и лактатдегидрогеназы (LDH).

«Прямые» стимуляторы окисления глюкозы

- ***Этилметилгидроксипиридина сукцинат.***

Представителем этой группы биологически активных соединений является сукцинат-2-этил-6-метил-3-оксипиридина (препарат мексидол), обладающий поликомпонентным, мультитаргетным (multi-targets) механизмом действия, в том числе способностью «стимулировать прямое окисление глюкозы по пентозофосфатному шунту и повышать уровень пула восстановленных нуклеотидов (НАДФН)» [5,39]. Сукцинат-2-этил-6-метил-3-оксипиридина широко применяется в клинике для лечения острых и хронических нарушений мозгового кровообращения, ишемической болезни сердца, острого билиарного панкреатита, профилактики гипогалактии и т.д. [33].

Стимуляторы анаэробного гликолиза

- ***Тиотриазолин.***

Представителем этой группы биологически активных соединений является препарат тиотриазолин, относящийся к клинико-фармакологической группе антиоксидантов. Показано, что механизм действия тиотриазолина включает в себя «усиление компенсаторной активации анаэробного гликолиза, а также снижение угнетения процессов окисления в цикле Кребса с сохранением внутриклеточного фонда АТФ» [4]. Согласно данным клинических исследований, терапия тиотриазолином (600 мг/сут., длительно) пациентов с постинфарктным кардиосклерозом приводила к улучшению как систолической, так и диастолической функции левого желудочка [35]. Также наличие у препарата кардиопротективной активности отмечено и у пациентов, страдающих стенокардией II-III функционального класса [12]. Однако в литературе высказывается мнение, что вопрос о клинической эффективности тиотриазолина требует дальнейшего изучения [19].

Модуляция окисления свободных жирных кислот

Изучение механизмов, лежащих в основе метаболического ремоделирования миокарда, позволило высказать предположение о том, что «одним из возможных перспективных направлений восстановления энергетического метаболизма ишемизированных кардиомиоцитов является оптимизация и/или подавление аномального метаболизма СЖК» [291].

Необратимые ингибиторы СРТ1.

Известны две изоформы карнитин-пальмитоилтрансферазы – СРТ-1 и СРТ-2, обе из которых обеспечивают транспорт СЖК в митохондрии. Известные в настоящее время ингибиторы СРТ преимущественно блокируют карнитин-пальмитоилтрансферазу 1 типа.

Представителями этой группы соединений являются препараты этомоксир и оксфеницин.

- ***Этомоксир.***

Доклинические исследования препарата этомоксир показали наличие у него кардиопротективной активности [144], что было подтверждено в первом пилотном клиническом исследовании [275]. Однако в дальнейшем применение этомоксира в клинике пришлось прекратить, поскольку у ряда пациентов были обнаружены неприемлемо высокие уровни печёночных трансаминаз [160].

- ***Оксфеницин.***

Согласно результатам доклинических исследований, в модельных экспериментах, воспроизводящих ХСН, терапия оксфеницином предотвращала истончение стенки левого желудочка сердца и отсрочивала терминальную стадию заболевания [205]. О проведении клинических исследований препарата не сообщалось.

Обратимые ингибиторы СРТ1.

- ***Пергексиллин.***

Пергексиллин как антиангинальный препарат известен с 70-х годов XX века. Позднее было показано, что механизм действия препарата связан с его способностью обратимо ингибировать СРТ1 и, в меньшей степени, СРТ-2. Ингибирование пергексилином СРТ-1/СРТ-2 повышает эффективность использования кислорода за счёт снижения β -окисления СЖК и увеличения утилизации глюкозы кардиомиоцитами [127]. Результаты клинических испытаний пергексалина противоречивы. С одной стороны, сообщается об отсутствии у препарата кардиопротективной активности [280], в других работах наличие таковой подтверждается [195]. Анализируя имеющийся литературный материал, посвящённый клиническому применению пергексалина, американский кардиолог Т.Р. Саррола констатирует, что «совокупность доказательств позволяет предположить, что пергексалин имеет перспективность в качестве терапии сердечной недостаточности» [77]. Возможно, окончательный ответ о наличии / отсутствии у пергексалина кардиопротективной активности даст недавно начатое проспективное многоцентровое, двойное слепое, плацебо-контролируемое, рандомизированное исследование RESOLVE-HCM [50]. Однако следует учитывать, что на фоне терапии пергексалином может развиваться клинически значимая гепатотоксичность и нейропатия [57].

- ***Амиодарон и дронедазон.***

Согласно данным литературных источников, антиаритмические лекарственные средства амиодарон и дронедазон, помимо целевого механизма действия, обладают способностью обратимо ингибировать СРТ1 [243].

Конкурентные ингибиторы γ -бутиробетаин-гидроксилазы (ингибиторы GBBH).

- ***Мельдоний.***

В клинике эта группа биологически активных соединений представлена препаратом мельдоний (милдронат). Препарат является конкурентным ингибитором GBBH – последнего фермента в цепи биосинтеза карнитина [286], и снижает абсорбцию экзогенного карнитина в тонком кишечнике благодаря конкурентному воздействию на специфический белок-транспортёр OCTN2 (organic carnitine cation transporter 2) [141], в силу чего препарат также классифицируют как ингибитор синтеза карнитина. «Мельдоний, ингибируя GBBH, катализирующую конверсию гамма-бутиробетаина в карнитин, тормозит поступление в клетку карнитина и тем самым снижает карнитин-зависимый транспорт СЖК в митохондрии» [150]. В следствие этого препарат «уменьшает интенсивность β -окисления СЖК посредством предотвращения поступления их в митохондрии» [150]. При этом мельдоний «ограничивает транспорт только длинноцепочечных СЖК, что препятствует накоплению недоокисленных СЖК внутри митохондрий, в то время как короткоцепочечные СЖК могут свободно проникать через мембрану митохондрий и вступать в реакцию β -окисления» [150]. В литературе представлен ряд небольших клинических исследований, свидетельствующих об эффективности мельдония у пациентов с ишемической болезнью сердца [7,105]. Так, например, было показано, что милдронат (500 мг/кг, 2 раза в сут., в течение 12 недель) в сочетании со стандартной терапией способствует повышению физической нагрузки у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения [104]. Вместе с тем, в литературе не представлено результатов репрезентативных, рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований, посвящённых изучению наличия у мельдония кардиопротективной активности.

Ингибиторы малонил-КоА декарбоксилазы (ингибиторы MCD).

Выше уже было сказано о том, что подавление активности MCD в кардиомиоцитах увеличивает содержание в них малонил-КоА, которая является естественным ингибитором фермента СРТ1 и, следовательно, уменьшает транспорт длинноцепочечных СЖК в митохондрии. Стратегия, направленная на «повышение уровней малонил-КоА в сердце, такая как ингибирование MCD, приводящая к снижению скорости β -окисления СЖК и параллельному увеличению скорости окисления глюкозы» [313], в последнее время рассматривается как один из

перспективных подходов к кардиопротекции. Согласно данным доклинических исследований по изучению возможности применения ингибиторов MCD в качестве кардиопротекторов показано, что ингибирование MCD соединениями CBM-300864 и CBM-301940 значительно увеличивало скорость окисления глюкозы и снижало выработку лактата, что сопровождалось значительным увеличением работы сердца по сравнению с контролем [102]. Данные о проведении клинических исследований, посвящённых изучению эффективности ингибиторов MCD, в литературе не представлены.

Стимуляторы окисления СЖК.

Концепция применения такого рода препаратов строится на том, что в условиях хронической патологии миокарда его метаболизм смещается в сторону окисления глюкозы, что не позволяет обеспечить адекватное энергообеспечение кардиомиоцитов и требует активации метаболизма СЖК. Одним из возможных путей решения этой задачи является стимуляция семейства транскрипционных факторов, активируемых рецептором пролифератора пероксисом (PPAR) – PPAR α и PPAR β/δ , которые контролируют активность ферментов, принимающих участие в β -окислении СЖК [131]. Однако эта концепция нуждается в дальнейшем изучении влияния фармакологической стимуляции различных PPAR на сердечную функцию и ремоделирование сердца при ХСН [292].

Активаторы PPAR α .

Фактор транскрипции PPAR α является преобладающей изоформой, регулирующей в сердце окисление СЖК, активность которого в условиях патологии сердца существенно снижается. В доклинических исследованиях показано, что активаторы PPAR α обладают кардиопротективной активностью [187,339]. Так, например, в исследовании Lam V.H. с соавторами показано, что активатор PPAR α – соединение GW7647, введённое как до, так и после ишемии, повышало скорость β -окисления СВЖ, что приводило к значительному увеличению выработки АТФ и ограничению постишемической сократительной дисфункции левого желудочка сердца [187].

Селективные агонисты PPAR β/δ .

В экспериментах *in vitro* показано, что селективные агонисты PPAR β/δ , также, как и активаторы PPAR α , обладают кардиопротективной активностью. В частности, показано, что селективный агонист PPAR β/δ – соединение GW0742 оказывает протекторное действие на кардиомиоциты, подвергнутые окислительному стрессу [58]. Также показано, что в условиях ишемии/реперфузии миокарда «активация PPAR β/δ соединением GW0742 уменьшила размер

инфаркта и частоту желудочковых аритмий, вызванных реперфузией» [250]. Она также активировала супероксиддисмутазу-2, каталазу и разобщающий белок 3, что приводило к ослаблению окислительного стресса, о чем свидетельствует снижение содержания в кардиомиоцитах 4-гидрокси-2-ноненаля разобщающего белка (4-HNE) [250]. Авторы этого исследования полагают, что «активация PPAR β/δ облегчает повреждение, вызванное ишемией / реперфузией миокарда посредством скоординированной стимуляции антиоксидантной защиты сердца и сохранения функции митохондрий».

Парциальные ингибиторы β -окисления СЖК (pFOX-ингибиторы).

Первоначально эта группа лекарственных средств, обладающих способностью подавлять аномальное β -окисление СЖК, получила название «блокаторы 3-кетоацил-КоА-тиолазы, поскольку именно этот механизм лежал в основе кардиопротективного действия единственного представителя этой группы триметазида. Однако, по мере внедрения в широкую клиническую практику ряда других препаратов метаболического действия, в частности ранолазина, в основе кардиопротективного действия которого лежит не блокада 3-кетоацил-КоА-тиолазы, а или обратимое ингибирование НАДН⁺-дегидрогеназы митохондрий, и/или активация пируватдегидрогеназы, эту группу лекарственных средств объединили под названием "парциальные ингибиторы окисления жирных кислот" – p-FOX ингибиторы (partial fatty acid oxidation inhibitors)» [291].

- ***Тримемазидин.***

Тримемазидин специфически ингибирует активность длинноцепочечного фермента 3-кетоацил-КоА-тиолазы (3-КАТ). 3-КАТ катализирует четвертую стадию реакции β -окисления СЖК, используя длинноцепочечную 3-Кетоацил-КоА в качестве субстрата для получения КоА [174]. Также имеются данные о том, что препарат является слабым обратимым ингибитором СРТ-1 [148].

Триметазидин устраняет ингибирование пируватдегидрогеназы (PDH) путем подавления активности 3-КАТ в матрице митохондрий и повышает скорость окисления глюкозы. В эксперименте было показано, что препарат значительно увеличивает в миокарде скорость окисления глюкозы, тогда как скорость окисления СЖК понижается [210]. Помимо этого, имеются экспериментальные данные о том, что на фоне продолжительной терапии триметазидином в миокарде значимо увеличивается содержание транспортёра глюкозы в кардиомиоциты белка GLUT-4 [345].

Таким образом, триметазидин способствует переключению энергетического метаболизма миокарда с окисления СЖК на утилизацию глюкозы, более выгодного в условиях дефицита кислорода пути получения энергии – гликолиза, а также и окислительного декарбоксилирования,

что способствует синтезу большего количества молекул АТФ на одну потребляемую молекулу кислорода, и, следовательно улучшению баланса между доставкой и потребностью сердечной мышцы в кислороде.

Недавно, появилось сообщение, о том что в модельных экспериментах воспроизводящих инфаркт миокарда у мышей триметазин активирует SIRT1-АМПК сигнальный путь, что влечёт за собой подавление активности проапоптотических каскадов и способствует восстановлению энергетического дефицита кардиомиоцитов [214].

В настоящее время клиническая эффективность триметазидина при различных патологических состояниях (хроническая ИБС, ХСН, диабетическая кардиомиопатия и т.д.) убедительно доказана большим количеством плацебо-контролируемых, рандомизированных исследований [116,231,282 и др.]. Например, по данным недавно опубликованных плацебо контролируемых, рандомизированных исследований, у пациентов с хронической ИБС триметазидин (70 мг/сут, *per os*) снижал частоту возникновения приступов стенокардии, повышал толерантность к физической нагрузке на фоне уменьшения необходимости использования нитратов короткого действия, а также улучшал эхокардиографические показатели левого желудочка сердца [152,282]. Согласно результатам плацебо контролируемых, рандомизированных исследований, посвящённых изучению эффективности триметазидина (60 мг/сут, *per os*) у пациентов с диабетической кардиомиопатией, на фоне приёма препарата отмечено улучшение систолической функции ЛЖ сердца, повышение толерантности к физической нагрузке и снижение уровня натрийуретического гормона (NT-pro BNP). Помимо этого у пациентов принимавших триметазидин, в отличие от группы плацебо, зафиксировано отсутствие отрицательной динамики эхокардиографических параметров отражающих функцию и структуру ЛЖ сердца [336,347].

По данным недавнего метаанализа, включившим шесть рандомизированных клинических исследований и объединившим 312 пациентов со стенокардией, на фоне приема триметазидина (от 60 до 70 мг/сут, *per os*) у пациентов значительно улучшалась переносимость физических нагрузок, а также улучшался класс стенокардии [45]. В другом метаанализе, объединившим 310 пациентов с не ишемической хронической сердечной недостаточностью, отмечено, что на фоне приёма триметазидина (60 мг/сут, *per os*) кроме улучшения переносимости физических нагрузок повышалась фракция выброса левого желудочка и снижалось пиковое потребление кислорода [346].

- ***Ранолазин.***

В большинстве публикаций механизм действия ранолазина связывают с его способностью частично ингибировать β -окисление СЖК [67,267], что, по всей видимости, основывается на результатах исследования Zacharowski К. с соавторами, показавших, что ранолазин реализует

свое кардиопротективное действие за счёт ингибирования β -окисления СЖК и активации пируватдегидрогеназы [340]. Однако, следует учитывать и тот факт, что позднее было показано, что антиишемическое действие ранолазина не связано с ингибированием окисления СЖК [323]. В этом плане интерес представляют результаты исследования с различными акцепторами электронов и респираторными ингибиторами, которые показали, что кардиопротективное действие ранолазина реализуется за счёт его способности ингибировать в митохондриях НАДН-дегидрогеназный комплекс (респираторный комплекс I) на сайте между феррицианидом и менадионом и восстановлением убихинона-1 [333].

Если механизмы, за счёт которых ранолазин оказывает кардиопротективное действия, дискуссионны, то его клиническая эффективность доказана плацебо-контролируемыми, рандомизированными исследованиями [227,329]. В результатах многоцентровых клинических исследований отмечено, что у пациентов со стенокардией на фоне приёма ранолазина (1000 мг/сут, per os) в течение 4 недель частота приступов снижалась более чем в три раза, улучшилась переносимость физической нагрузки и практически полностью отпала необходимость применения нитратов короткого действия [146,227]. В другом клиническом исследовании пациенты со стабильной ИБС, принимавшие ранолазин (2000 мг/сут, per os) в течение трёх месяцев, улучшили показатели общей физической активности на фоне выполняемых аэробных упражнений. У них, в сравнении с пациентами получавшими плацебо, увеличился порог стенокардии при выполнении физической нагрузки и количество потребляемого кислорода за одно сердечное сокращение [328]. Также имеется сообщение о более успешном применении ранолазина (нарастающая доза от 750 до 1500 мг/сут, per os, в течение 5 недель) для лечения диастолической дисфункции, возникшей после химиотерапии, у онкологических пациентов в сравнении применением стандартной терапии (β -блокаторы и/или ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или петлевые диуретики). При этом, как положительный фактор для этих пациентов, отмечено, что ранолазин не снижает ЧСС [230].

В отличие от триметазидина ранолазин помимо антиишемической обладает и антиаритмической активностью продемонстрированной в большом числе крупных клинических исследований, что подтверждено результатами системных мета-анализов [91,143,270]. Так, например в крупном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании RAID Trial Investigators включившем в себя 1012 пациентов с высоким риском внезапной смерти показано, что ранолазин (1000мг 2 раза в день, per os) способствует значительному снижению частоты рецидивов ЖТ или ФЖ [342].

Не менее важно и то, что в 2021 году в журнале Expert Review of Cardiovascular Therapy были опубликованы результаты клинического исследования проведённого с участием пациентов страдающих невропатической болью, из которого следует, что триметазидин (80 мг/день, per os)

и ранолазин (750-1000 мг/день, per os), помимо кардиопротективной, обладают и выраженной противоболевой активностью [306].

1.1.4 Заключение

Энергетический метаболизм сердца представляет собой сложный и строго регулируемый процесс, который может получать энергию практически из всех типов циркулирующих энергетических субстратов, однако в нормальных физиологических условиях основным источником энергии являются короткоцепочечные и длинноцепочечные СЖК. Происходящее в условиях патологии в сердечной мышце метаболическое ремоделирование миокарда приводит к существенной перестройке энергообеспечения кардиомиоцитов, а также накоплению в них недоокисленных токсических продуктов метаболизма СЖК. Систематическое изучение патологических процессов, лежащих в основе метаболического ремоделирования миокарда, создало фундаментальную базу для поиска оригинальных лекарственных средств (миокардиальных цитопротекторов), позволяющих оптимизировать использование кислорода ишемизированным миокардом посредством стимуляции внутриклеточного обмена глюкозы и/или других доступных энергетических субстратов на фоне подавления / оптимизации метаболизма СЖК. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что несмотря на самые разнообразные подходы к созданию миокардиальных цитопротекторов, наибольшие успехи достигнуты в создании лекарственных средств, обладающих свойствами парциальных ингибиторов β -окисления СЖК, клиническая эффективность которых доказана большим количеством рандомизированных плацебо-контролируемых исследований и метаанализов.

Исходя из сказанного, поиск новых оригинальных миокардиальных цитопротекторов, механизм действия которых в условиях патологии потенциально включает в себя и подавление β -окисления СЖК, представляется актуальным.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Экспериментальные животные

Опыты проводили на нелинейных белых крысах-самцах (n=1345) нелинейных белых мышах-самцах (n=768), мышах-самцах линий BALB/c (n=24) и C57B 1/6 (n=100), полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Условия содержания животных соответствовали ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Переиздание) и ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (Переиздание). Животные содержались в условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», при регулируемом световом режиме (12 ч. свет / 12 ч. темнота), в стандартных клетках (крысы по 8-10 особей, мыши по 6-20 особей), со свободным доступом к брикетированному корму и воде. Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC)), а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (протокол №1 от 14 ноября 2016 г.).

2.2 Исследования *in vitro*

2.2.1 Молекулярные исследования

Оценку экспрессии генов рецепторных и регуляторных белков определяли в миокарде крыс. После декапитации у животных на секции брали образцы миокарда левого желудочка. Образцы отмывали от крови в физиологическом растворе натрия хлорида при +4°C, после чего их помещали в раствор RNeasy (США, Ambion) и хранили до выделения РНК при температуре -20°C. Образцы, извлечённые из раствора RNeasy, освобождали от остатков жидкости и гомогенизировали в фарфоровой ступке с жидким азотом. Выделение РНК из тканей левого желудочка сердца проводили с помощью набора GeneJET™ («Thermo Fisher Scientific», США) согласно протоколу производителя. Концентрацию суммарной РНК в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США). Выделенную суммарную РНК для предотвращения контаминации геномной ДНК обрабатывали ДНК-азой I. Добавив все компоненты, смесь инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Фермент инактивировали нагреванием при 65°C в течение 10 мин, предварительно добавив 25 мМ ЭДТА, из расчёта 1 мкл на 10 мкл реакционной смеси, для предотвращения гидролиза РНК в процессе нагревания. Реакцию обратной транскрипции (синтез цепи комплементарной ДНК) проводили с использованием гексамерных Random праймеров и обратной транскриптазы M-MuLV в составе набора RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (США) в соответствии с протоколом производителя. Синтезированную кДНК хранили при -20°C. ПЦР-РВ проводили с помощью набора qPCRmix-HS («Евроген», Россия), используя праймеры и флуоресцентные зонды («ДНК-синтез», Россия). В качестве гена «домашнего хозяйства» был использован ген β-актина. ПЦР-РВ проводили в 96-луночном ПЦР-планшете («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США).

Предварительную обработку результатов проводили с использованием пакета программного обеспечения прибора. Дальнейшая обработка проводилась в приложении Microsoft Office Excel 2016 с использованием алгоритма $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Расчёт уровня матричной РНК проводили с использованием алгоритма delta-delta (Ct), в основу которого положены относительные изменения пороговых циклов (Ct) исследуемого и референсного гена в опытных и контрольных образцах. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий по Левену. Статистическую значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента, в случае необходимости использовали

приближенный вариант критерия для выборок с неравными дисперсиями. Полученные результаты представляли в виде средних и их стандартных ошибок. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

2.2.2 Измерение мембранного потенциала и трансмембранных ионных токов

Электрофизиологические исследования по измерению мембранного потенциала и ионных токов проводили методом локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации whole cell [25, с.400]. В эксперименте использовали смешанную нейроглиальную культуру клеток гиппокампа, выделенную из мозга новорождённых (P1-3) крыс породы Вистар. После декапитации извлекали мозг и переносили его в чашку Петри с холодным раствором Версена на лёду. Мозг разрезали вдоль, удаляли сосудистые оболочки, средний и задний мозг. Извлекали гиппокамп и переносили в холодный раствор Версена. Далее ткань аккуратно измельчали ножницами и помещали в раствор Версена с добавлением 0,1% трипсина и инкубировали 10 мин при 37°C на термошейкере при 600 об/мин. Затем кусочки ткани трижды отмывали нейробазальной средой (Neurobasal A) и диссоциировали путем энергичного пропускания через наконечник пипетки. Полученную суспензию центрифугировали 3 минуты при 300 g. Супернатант удаляли, клетки ресуспендировали в нейробазальной среде с добавлением глутамина (0,5 mM), Supplement B27 (2 %), гентамицина (15 мкг/мл). Готовую суспензию помещали в стеклянные цилиндры со шлифованными торцами с внутренним диаметром 6 мм, поставленные на круглые покровные стекла диаметром 25 мм (VWR International), покрытые полиэтиленгликолем из расчёта 1 гиппокамп на 15 стёкол и помещали в 35 мм чашки Петри (Greiner). В каждый цилиндр помещали 100 мкл суспензии клеток и оставляли на 1 ч для прикрепления в CO₂-инкубаторе при 37°C. После этого цилиндры извлекали, а объем культуральной среды доводили до 1,5 мл. Каждые 3 дня заменяли 2/3 объёма культуральной среды на свежую. Эксперименты проводили на культурах в возрасте 12-14 дней (первичное обнаружение эффектов на ионные каналы) и 2-3 дня (количественная оценка влияния на конкретные ионные токи).

Исследования проводились на УНУ «Флуоресцентная станция Axio Observer Z1 со встроенным микроинкубатором, электрофизиологической установкой «patch clamp», оснащённой высокоскоростной камерой Hamamatsu ORCA-Flas».

Круглое покровное стекло с культурой клеток монтировали в специальную измерительную камеру. Объем среды в камере составлял 1 мл. Реагенты применялись в непрерывном потоке раствора Хэнкса с помощью специальной перфузионной системы, позволявшей быстро заменить раствор в камере. Добавление реагентов и отмывку проводили

путем замены среды в десятикратном объёме с помощью системы, обеспечивающей перфузию со скоростью 15 мл/мин.

Пипетки изготавливали из мягкого молибденового стекла на пулере P-97 Flaming/Brown Micropipette Puller (Sutter Instrument Co). Сопротивление полученных пипеток составляло 4-6 МОм. Пипетки заполняли с широкого конца при помощи шприца с пластиковым наконечником.

Для измерения потенциала мембран нейронов ячейку с покровным стеклом, заполненную 1 мл раствора HBSS, устанавливали на заземлённый предметный столик микроскопа Axio Imager Z1. Микроскоп оснащён микроманипулятором для подвода пэтч-пипеток и расположен на столе с воздушной подушкой в камере Фарадея, для исключения механических воздействий и электрических наводок во время экспериментов. В экспериментальную ячейку помещали индифферентный электрод и трубки перфузионной системы для подачи и отвода среды. Перфузия производилась аналогично экспериментам с измерением флуоресценции.

Нейроны визуализировались в микроскоп, после чего к клетке микроманипулятором подводилась пэтч-пипетка. Изменения потенциала мембраны регистрировали в режиме фиксации тока, для чего использовался усилитель Axopatch 200B (Molecular Devices), АЦП Digidata 1440A и программное обеспечение pClamp10.2 (Molecular Devices). Данные электрофизиологии анализировались с помощью программы Clampfit 10.2.

Эксперименты проводились с использованием раствора для патч-пипетки, содержащего (в mM) KCl, 130 K-глюконат, 1 MgCl₂ × 6 H₂O, 0,25 EGTA, 4 HEPES, 2 Na₂-АТФ, 0,3 Mg-АТФ, 0,3 Na-GTP, 10 Na₂-фосфокреатин (305-310 mOsm, pH 7,2). Внеклеточный р-р Хэнкса, использованный для всех записей содержал (в mM): 156 NaCl, 3 KCl, 2 MgSO₄, 1,25 KH₂PO₄, 1,4 CaCl₂, 10 глюкозы и 10 HEPES, pH 7,35, при температуре 25-28°C.

Для исследования влияния изучаемых соединений на вызванные потенциалы действия и интервалы между ними, а также изменение потенциала мембраны, вызванное активацией потенциал-зависимых кальциевых каналов, были использованы культуры возрастом 12-13 дней. Записи производились в режиме фиксации тока. На клетки подавались токовые стимулы различных значений (от 10 до 200 пА с шагом 5 пА), продолжительность стимуляции составляла 1000 мс, интервалы между стимулами 5 с.

Для исследования влияния препаратов на K⁺- и Na⁺-токи эксперименты проводились на молодых нейроглиальных культурах, возрастом 2-3 дня. Для записи натриевых токов использовался внутривнутрипипеточный раствор, в котором все соли калия были заменены на соли цезия с целью ингибирования калиевых токов (для доведения pH использовался раствор CsOH). Для записи калиевых токов во внеклеточный раствор добавляли 100 нМ тетродотоксина, для блокирования Na⁺-тока. Записи производились в режиме фиксации потенциала. После добавки вещества на клетку подавались ступеньки напряжения – 30 мВ (ток достигал максимальных

значений у большинства клеток при этом стимуле) продолжительностью 50 мс, с интервалом 5 с на протяжении 5 мин. Для стандартизации значений токов, результаты записи с каждой клетки делились на ёмкость данной клетки.

Эксперименты с каждой концентрацией веществ были повторены не менее чем на 3 культурах. Растворы исследуемых веществ каждый раз готовились непосредственно перед экспериментом.

Статистическую значимость различий концентраций полумаксимального ингибирования (IC_{50}) соединения АЛМ-802 для Na^+ - и K^+ -каналов определяли с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Полученные результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

2.2.3 Измерение цитозольной концентрации ионов Ca^{2+}

Измерение концентрации цитозольного кальция проводили методом флуоресцентной микроскопии. Уровень концентрации внутриклеточного кальция ($[Ca^{2+}]_i$) оценивали с помощью двухволнового зонда Fura-2, по стандартной методике [155]. Культуру клеток готовили, как было описано выше, в подпункте 2.2.2. Для прокраски клеток использовали эфир Fura-2AM в конечной концентрации 4 мкМ в растворе Хенкса. На каждое стекло с культурой клеток добавляли 200 мкл свежеприготовленного раствора красителя и инкубировали в термостате 40 мин при 37°C. После этого культуру промывали раствором Хенкса и инкубировали 10-15 мин

Для измерений $[Ca^{2+}]_i$ использовали систему анализа изображений на основе моторизованного микроскопа Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Германия), оснащённого высокоскоростной CCD-камерой Hamamatsu ORCA-Flash 2.8. Источником возбуждения флуоресценции служил ламповый осветитель Lambda DG-4 Plus (Sutter Instruments, США). Для возбуждения и регистрации флуоресценции Fura-2 использовали фильтр 21HE (Carl Zeiss, Германия) с фильтрами возбуждения BP340/30 и BP387/15. Регистрации динамики $[Ca^{2+}]_i$ производилась с частотой кадров 2 кадра в секунду.

2.2.4 Изолированная полоска миокарда

Методом оценки параметров изометрического сокращения изолированного препарата сердца (изолированные предсердия) [9] изучали рецепторные механизмы действия. Исследования выполнены на полосках ткани миокарда правого предсердия, полученных от нелинейных белых крыс-самцов. Наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг, в/б) фиксировали в положении на спине, после чего быстро извлекали сердце и помещали его в чашку Петри с охлаждённым раствором Кребса-Хенслайта (pH=7,4), оксигенированным карбогеном (95% O_2 и

5% CO₂). Состав раствора Кребса-Хенселейта (в мМ): NaCl – 121; KCl – 4,69; KН₂РO₄ – 1,1; NaHCO₃ – 23,8; MgSO₄ – 1,6; CaCl₂ – 1,6; ЭДТА – 0,032; D-глюкоза – 8. Затем параллельно продольной оси правого предсердия иссекали полоску миокарда длиной 8 – 12 и шириной 1 – 2 мм, которую закрепляли вертикально при помощи лигатуры, фиксируя один конец полоски неподвижно, а другой к изометрическому датчику силы (Radnoti). Полоску располагали между двумя платиновыми электродами, расположенными на расстоянии 2 – 3 мм от неё. Вся система размещалась в резервуаре объёмом 5 мл, заполненным раствором Кребса-Хенселейта, параметры которого описаны выше. Сокращения полоски миокарда вызывали одиночными прямоугольными импульсами (4 мс, 10 В, 1 Гц) с помощью электростимулятора HSE (Германия). Период адаптации ткани перед исследованием длился 40-60 мин, в течение которого постепенно повышали температуру раствора (до 38,0°С) и корректировали натяжение полоски до уровня, при котором она развивала максимальную силу сокращения. После периода адаптации сокращение полоски происходило за счёт собственной ритмической активности. Для регистрации данных изометрического датчика силы использовали систему регистрации данных PowerLab 8/35, а для обработки полученных результатов – программное обеспечение LabChart 7 Pro.

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения полученных данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Так как распределение выборок не отличалось от нормального, то для определения статистической значимости различий использовали дисперсионный анализ повторных измерений с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Дункану. Полученные результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.3 Исследования *in vivo*

2.3.1 Определение LD₅₀

Значения LD₅₀ соединений определяли на нелинейных белых мышах-самцах. Вещества вводили внутривентриально в объёме 0,1мл / 10г массы тела не менее чем в пяти различных дозах, количество животных в каждой серии было равно 6. В качестве растворителя использовали апирогенную воду [25, с.15-16].

Летальность в группах животных оценивали через 24 часа после введения соединений. Значения LD₁₆, LD₅₀ и LD₈₄ с их доверительными 95% интервалами рассчитывали по методу Литчфилда-Вилкоксона.

2.3.2 Определение эффективной дозы (ED) и терапевтического индекса (TI).

Изучение эффективной дозы (ED) соединения-лидера (шифр АЛМ-802) было проведено на модели аконитиновой аритмии. Для расчёта ED оценивали количество животных по признаку наличия аритмии (см. подпункт 2.4.1) в группах животных получавших различные дозы исследуемого вещества. В остальном методика расчёта ED не отличалась от таковой как при определении LD₅₀: с помощью построения графика «доза–эффект» определяли эффективную дозу, ED₁₆, ED₅₀, ED₈₄ – расчётные дозы, оказывающие противоаритмический эффект на 16%, 50% и 84% соответственно. Затем для оценки вероятной терапевтической широты будущего лекарственного средства рассчитывали терапевтический индекс (TI) как соотношение соответствующей летальной и эффективной доз ($TI_{50} = LD_{50} / ED_{50}$) [25, с.385].

2.3.3 Регистрация электрокардиограммы у крыс

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали на подогреваемом столике (Kent Scientific, США) в положении на спине. ЭКГ (стандартные отведения) регистрировали при помощи ветеринарного компьютерного электрокардиографа «Поли-Спектр 8/В» (Нейрософт, Россия) с пакетом прикладных программ «Поли-Спектр» (Нейрософт, Россия).

2.3.4 Оценка влияния изучаемых соединений на структуру ЭКГ

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали на подогреваемом столике (Kent Scientific, США) в положении на спине. Перед введением исследуемых веществ регистрировали фоновую ЭКГ (см. подпункт 2.3.3) и на 5, 10, 15, 20, 30, 45 и 60 минутах после введения, продолжительность записи 1 минута. Растворы изучаемых соединений вводили болюсом в бедренную вену, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного.

Для анализа структуры ЭКГ во II-ом стандартном отведении оценивали следующие показатели [29,40, 25, с.410-411]:

- RR min – минимальная частота сердечных сокращений за период наблюдения;
- RR max – максимальная частота сердечных сокращений за период наблюдения;
- RR mean – среднее значение ЧСС за период наблюдения;

- PQ интервал – время проведения возбуждения по предсердиям и атриовентрикулярному узлу;
- QRS комплекс – фаза деполяризации желудочков сердца;
- QT интервал – период от начала деполяризации до окончания реполяризации желудочков сердца;
- QTc интервал – скорректированный интервал QT, позволяющий оценить истинную величину QT, вне зависимости от величины частоты сердечных сокращений.

Статистическую обработку данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Так как распределение в большинстве выборок значительно отличалось от нормального, то для определения значимости различий использовали непараметрический аналог дисперсионного анализа по Фридману с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Данные описывали с помощью медиан и нижних и верхних квартилей. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.3.5 Оценка влияния изучаемых соединений на артериальное давление

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали на подогреваемом столике (Kent Scientific, США) в положении на спине. Выделяли и катетеризировали правую сонную артерию и правую бедренную вену. Растворы изучаемых соединений вводили болюсно в левую бедренную вену, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали 0,9% раствор NaCl для в/в введения. Для регистрации кардиоэлектрических потенциалов во II стандартном отведении использовали игольчатые электроды.

Для прямой катетеризации сосудов использовали политетрафторэтиленовые катетеры собственной сборки с внутренним диаметром 0,6 мм. Для регистрации параметров периферической гемодинамики катетеры подключались к датчикам артериального (АРТ300, Hugo Sachs Electronic) и венозного (P75, Hugo Sachs Electronic) давления. Сигналы с датчиков давления и сигналы с игольчатых электродов ЭКГ посредством цифро-аналогового преобразователя (Hugo Sachs Electronic) коммутировались через устройство сбора данных (ADInstruments PowerLab 8/35), а далее передавались на персональный компьютер, где с помощью программного обеспечения (ADInstruments LabChart 8) велся мониторинг, регистрация и первичная обработка получаемых данных [165].

С помощью описанной системы регистрации артериального давления получали следующие параметры периферического артериального давления: максимальное давление во время цикла (систолическое АД); давление в начале цикла (диастолическое АД); среднее арифметическое давление в текущем цикле (среднее АД); разница между диастолическим и

систолическим (пульсовое давление); венозное давление. Запись параметров артериального давления велась непрерывно. Период стабилизации показателей после подключения системы регистрации составлял 5-10 минут. Для извлечения параметров использовали участки продолжительностью 20 секунд: до введения и через 5, 10, 15, 20 и 30 минут после введения исследуемого вещества.

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как полученные данные имели распределение, близкое к нормальному и дисперсии выборок были гомогенны, то для сравнения выборок использовали дисперсионный анализ повторных измерений с последующей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.3.6 Эхокардиографические исследования

Наркотизированных кетаминем крыс (100 мг/кг, в/б) фиксировали в положении на спине и выбривали шерсть на грудной клетке. Измерения производили в одномерном М- и двухмерном В-модальных режимах при положении датчика эхокардиографа в парастернальной позиции по длинной оси сердца. В М-модальном режиме оценивали конечно-систолический (КСР) и конечно-диастолический (КДР) размеры левого желудочка сердца, затем по методу Teicholz [302] рассчитывали производные показатели – конечно-систолический (КСО) и конечно-диастолический (КДО) объёмы, а также фракцию выброса (ФВ) и фракцию укорочения (ФУ), отражающие эффективность работы сердца.

Оценку эхокардиографических показателей проводили, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Все измерения выполняли в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии [189]. В работе использовали многоцелевой ультразвуковой сканер (DP-6600 Mindray, Китай) с микроконвексным датчиком 6,5/8,0 МГц (65C15EA Mindray, Китай).

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как в подавляющем большинстве случаев данные имели распределение близкое к нормальному и дисперсии выборок были гомогенны, то для сравнения независимых выборок использовали однофакторный дисперсионный анализ с последующей обработкой методом множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу или Даннету (для сравнения всех выборок с одной). Для сравнения зависимых выборок (разные временные точки после введения вещества) с исходным уровнем применяли

дисперсионный анализ повторных измерений с последующей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.3.7 Электрофизиологические исследования

Наркотизированных золетилом (12,5-30 мг/кг, в/м) крыс, фиксировали в положении на спине, проводили трахеостомию и подключали к аппарату искусственной вентиляции лёгких для мелких животных (Ugo Basele, Италия). Далее через срединную торакотомию формировали доступ к сердцу, вскрывали перикард. Перевязку коронарной артерии для воспроизведения экспериментального инфаркта миокарда выполняли, как описано в подпункте 2.4.7. Последовательность деполяризации изучали методом синхронной многоканальной кардиоэлектрохронотопографии [24,28]. Регистрацию последовательностей деполяризации эпикарда предсердий и стенки левого желудочка сердца начинали перед введением изучаемых соединений и продолжали в течение 30 минут. Растворы изучаемых соединений в опытных группах и физиологический раствор в контрольных группах вводили болюсно в бедренную вену в момент перевязки коронарной артерии, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали 0,9% раствор NaCl.

Для определения последовательности деполяризации эпикарда предсердий на эпикард накладывали многоканальные поверхностные электроды для синхронной регистрации 40 униполярных эпикардиальных электрограмм относительно объединённого отведения от конечностей. Синхронно с эпикардиальными предсердными электрограммами регистрировали биполярные ЭКГ в отведениях от конечностей.

Для определения последовательности деполяризации желудочков сердца на эпикарде правого желудочка, эпикарде левого желудочка и в стенке левого желудочка сердца крыс проводили синхронную регистрацию униполярных электрограмм от 64-120 областей отведения на поверхности желудочков или из стенки левого желудочка относительно центральной терминали Вильсона. На эпикарде пластинчатые многоканальные электроды располагали на поверхности обоих желудочков равномерно от атриовентрикулярной границы до верхушки сердца. Множественные игольчатые электроды (по 4-8 отведений на каждом электроде) вводили перпендикулярно в стенку левого желудочка в трёх поперечных плоскостях.

Регистрация и обработка получаемых данных велась при помощи системы «Кардиоинформ» [24]. Момент прихода волны возбуждения в каждую точку отведения электрограмм определяли по минимуму первой производной потенциала по времени. По окончании эксперимента фиксировали фактическое расположение отводящих многоканальных электродов. По моментам прихода волны возбуждения строили хронотопографические карты.

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Так как распределение выборок было близко к нормальному, то статистическую значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

2.3.8 Изучение анксиолитической активности

Эмоционально-стрессовое воздействие моделировали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) [25, с.213]. Опыты проводили на «высоко-тревожных» мышах линии BALB/c и на крысах с алкогольной абстиненцией (см. подпункт 2.4.10). Мышам изучаемое соединение вводилось внутривентриально, однократно за 30 минут до эксперимента, а объём вводимого раствора составлял 10мл / 1кг. Схема введения изучаемого соединения крысам, описана в подпункте 2.4.10. Животные контрольных групп получали эквивалентный объём воды для инъекций.

Установки ПКЛ для мышей и крыс (НПК Открытая Наука, Россия) были изготовлены из пластмассы серого цвета и имели непрозрачные боковые стенки, окрашенные в цвет пола. Лабиринты были приподняты на высоту 55 см (для крыс) и 38 см (для мышей). Установки после каждого животного очищались и протирались спиртом. Каждое животное помещали в центр лабиринта на 300 секунд. Регистрировали следующие показатели: время нахождения в открытых рукавах; число заходов в открытые рукава; число заходов в закрытые рукава; время нахождения в центре; число выходов на центральную площадку; число вертикальных стоек; количество кивков в открытых рукавах. Общую двигательную активность вычисляли как сумму заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта. Анксиолитическое действие оценивали по увеличению продолжительности нахождения в открытых рукавах и числа заходов животных в открытые рукава лабиринта [25, с.266-267]. Показатели «время в открытых рукавах» и «число заходов в открытые рукава», сравнивали помимо абсолютных значений в относительных единицах (в %), которые рассчитывали по формулам:

$$\text{относительное время в открытых рукавах, \%} = \frac{\text{время в открытых рукавах, сек}}{300, \text{сек}} \times 100\%$$

$$\text{относительное число заходов в открытые рукава, \%} = \frac{\text{число заходов в открытые рукава}}{\text{общее число заходов в открытые и закрытые рукава}} \times 100\%$$

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка,

гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как в подавляющем большинстве случаев данные имели распределение отличное нормального, то для сравнения выборок использовали непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по Крускалу-Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну.

2.3.9 Изучение анальгетической активности

- **Тест «горячая пластина».**

Для оценки ноцицептивной реакции использовали тест «горячая пластина». С помощью анальгезиметра «Ugo Basile» (Италия) регистрировали латентное время реакции (лизание задней лапы или прыжок) у мышей C57B 1/6. За 1-2 ч до начала опыта отбирали мышей C57B 1/6 на основе базовой реактивности в условиях данной экспериментальной модели, исключая мышей, оставшихся на нагретой до $55 \pm 0,5^\circ\text{C}$ пластине дольше 10 с. В ходе эксперимента латентный период в 20 с (максимальное время экспозиции) расценивали как 100% анальгезию. Фиксировали время появления реакции у мышей через 30, 90 и 120 мин после однократного внутрибрюшинного введения изучаемых соединений. Полученные результаты выражали в виде максимально возможного эффекта (МВЭ), % [25, с.202]:

$$\text{максимально возможный эффект, \%} = \frac{\text{латентный период реакции после введения препарата} - \text{фоновый латентный период реакции}}{\text{максимальное время экспозиции} - \text{фоновый латентный период реакции}} \times 100\%$$

- **Тест «уксусные корчи».**

Для оценки ноцицептивной реакции также использовали тест «уксусные корчи» [182] на мышах C57B 1/6. Животным однократно, внутрибрюшинно вводили изучаемые соединения за 30 мин до внутрибрюшинной инъекции 0,75% раствора уксусной кислоты. Подсчитывали количество лордозов у каждого животного в течение 15 мин после введения уксусной кислоты [25, с.206].

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как в подавляющем большинстве случаев данные имели распределение близкое к нормальному и дисперсии выборок были гомогенны, то для сравнения независимых выборок использовали однофакторный дисперсионный анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Даннетту (в тесте «горячая пластина») и по Дункану (в тесте «уксусные корчи»). Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.3.10 Изучение актопротекторной активности

Эксперименты проводили на нелинейных белых мышах-самцах. Забег осуществляли в условиях нормотермии на тредбане для мышей (PanLab, Испания) с системой электрической стимуляции (максимальный ток стимуляции – 0,8 мА). Пройдённую дистанцию регистрировали с помощью программного обеспечения (SeDaCom, Испания). Критерием полного утомления считали отказ животного продолжать забег и нахождение на площадке электрической стимуляции более 2 секунд.

На первом этапе исследования проводили тренировочные забеги животных с постепенным увеличением нагрузки (всего 3 забега, с интервалом 2 дня между забегами). Затем, преодолевавших приблизительно одинаковую дистанцию, животных отбирали в эксперимент и рандомизировали между опытными и контрольными группами.

На втором этапе оценивали влияние изучаемых веществ на выносливость, определяемую величиной пройденной дистанции. Для этого через 2 дня отдыха, после рандомизации, проводили забег до полного утомления – «Контрольный забег» [25, с.791]. На этом этапе исследуемые соединения вводили дважды, за 30 минут перед забегом и второй раз сразу после забега. Растворы изучаемых соединений в опытных группах и физиологический раствор в контрольных группах, стерилизовали через шприцевой фильтр, 0,22 мкм (TRP, Швейцария) и вводили внутривентриально, объем вводимой жидкости всегда составлял 10 мл на 1 кг массы животного.

На третьем этапе, для оценки способности восстановления выносливости, на следующий день аналогичный забег до полного утомления повторяли.

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как распределение данных соответствовало нормальному закону и дисперсии были гомогенны, статистическую значимость различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Данные описаны с помощью средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.4 Методы моделирования патологических состояний сердечно-сосудистой системы

2.4.1 Модель аконитиновой аритмии

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали в положении на спине, проводили трахеостомию и подключали к аппарату искусственной вентиляции лёгких для мелких животных (Ugo Basele, Италия). Растворы аконитина, изучаемых соединений в опытных группах и физиологический раствор в контрольных группах вводили болюсно в бедренную вену, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали апирогенную воду.

Политопную экстрасистолию (смешанная предсердно-желудочковая экстрасистолия) вызывали введением раствора аконитина (аконитина гидрохлорид, УФИХ РАН), который готовили *ex tempore* для применения в течение дня. При этом подбирали его минимальную дозу с таким расчётом, чтобы у всех животных контрольной группы ($n \geq 6$) в течение 5 минут после введения аконитина развивалась политопная экстрасистолия. Величина подобранной дозы составляла 30-40 мкг/кг. Перед началом эксперимента у животных регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении. За 2 минуты до введения аконитина вводили раствор изучаемого соединения или физиологический раствор и начинали непрерывную регистрацию ЭКГ до 20 минуты после введения аконитина. Критерием антиаритмического действия изучаемого соединения считали эффект отсутствия политопной экстрасистолии в течение 10 минут после введения аконитина [25, с.386].

Статистическую обработку проводили с помощью критерия точной вероятности Фишера, при сравнении 2-х и более выборок с контролем учитывали множественность сравнений. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.4.2 Модель хлоридкальциевой аритмии

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали в положении на спине. Растворы изучаемых соединений в опытных группах и физиологический раствор в контрольных группах вводили болюсно в бедренную вену, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали апирогенную воду.

Фибрилляцию желудочков вызывали введением готового 10% раствора CaCl_2 . При этом подбирали минимальную дозу CaCl_2 за счёт изменения объёма вводимого раствора, с таким расчётом, чтобы у всех животных контрольной группы ($n \geq 6$) развивалась фибрилляция

желудочков переходящая в асистолию и наступала гибель животного. Величина подобранной дозы составляла 125-160 мг/кг (0,29-0,45 мл 10% CaCl₂). Перед началом эксперимента у животных регистрировали ЭКГ (II ст. отведение). За 2 минуты до введения CaCl₂ вводили раствор изучаемого соединения или физиологический раствор и начинали непрерывную регистрацию ЭКГ вплоть до гибели животного (5 минут после наступления асистолии) либо до 5 минут после восстановления ритма. Критерием антиаритмического действия изучаемого соединения считали эффект отсутствия нарушений ритма или восстановление нормального ритма после фибрилляции и выживание животного [25, с.386].

Статистическую обработку проводили с помощью критерия точной вероятности Фишера, при сравнении 2-х и более выборок с контролем учитывали множественность сравнений. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.4.3 Модель хлоридбариевой аритмии

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали в положении на спине. Растворы изучаемых соединений в опытных группах и физиологический раствор в контрольных группах вводили болюсно в бедренную вену, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали апиrogenную воду.

Фибрилляцию желудочков вызывали введением раствора BaCl₂ (20 мг/кг, в/в). При этом у всех животных контрольной группы ($n \geq 6$) развивалась фибрилляция желудочков переходящая в асистолию и наступала гибель животного. Раствор BaCl₂ готовили *ex tempore* и использовали в течение дня. Перед началом эксперимента у животных регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении. За 2 минуты до введения BaCl₂ вводили раствор изучаемого соединения или физиологический раствор и начинали непрерывную регистрацию ЭКГ вплоть до гибели животного (5 минут после наступления асистолии) либо до 5 минут после восстановления ритма. Критерием антиаритмического действия изучаемого соединения считали эффект отсутствия нарушений ритма или восстановления нормального ритма после фибрилляции и выживание животного [128, 25, с.388].

Статистическую обработку проводили с помощью критерия точной вероятности Фишера, при сравнении 2-х и более выборок с контролем учитывали множественность сравнений. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.4.4 Модель реперфузионных аритмий

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали в положении на спине, проводили трахеостомию и подключали к аппарату искусственной вентиляции лёгких для мелких животных (Ugo Basele, Италия). Растворы изучаемых соединений в опытных группах и

физиологический раствор в контрольных группах вводили болюсно в бедренную вену, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали апирогенную воду.

Для воспроизведения реперфузионной аритмии перевязывали коронарную артерию с последующим снятием лигатуры [184]. Для этого формировали хирургический доступ к коронарной артерии. Посредством торакотомии во втором и пятом межреберьях перевязывали маммарные артерии, внутренние грудные вены и производили гемистернэктомию с костэктомией 3 и 4 ребра, вскрывали перикард и под левую коронарную артерию (или её крупные ветви), в области выхода артерии из-под ушка, подводили лавсановую лигатуру. Ишемию миокарда вызывали одномоментной перевязкой коронарной артерии. Кровоток в ишемизированном участке восстанавливали (реперфузия) через 7 минут ишемии путём удаления лигатуры. Раствор изучаемого соединения или физиологический раствор вводили за 5 минут до реперфузии. Регистрацию ЭКГ во II стандартном отведении, начинали за минуту до перевязки коронарного сосуда и продолжали в течение всего эксперимента. Затем подсчитывали количество животных, у которых возникали, жизнеугрожающие нарушения ритма сердца (фибрилляции желудочков или желудочковые тахикардии). Критерием антиаритмического действия изучаемого соединения считали эффект отсутствия жизнеугрожающих нарушений ритма [25, с.395].

Статистическую обработку проводили с помощью критерия точной вероятности Фишера, при сравнении 2-х и более выборок с контролем учитывали множественность сравнений. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.4.5 Модель субэндокардиальной ишемии, вызванной изопротеренолом

Наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б) крыс, фиксировали в положении на спине. Острую субэндокардиальную ишемию миокарда вызывали непрерывной инфузией в бедренную вену неселективного $\beta_{1,2}$ -адреномиметика изопротеренола, в дозе 20 мкг/кг/мин [338]. Постоянную скорость инфузии раствора изопротеренола (0,2 мл/мин) обеспечивали с помощью инфузионной помпы «Линеомат» (Россия). Учитывая светочувствительность изопротеренола использовали непрозрачные шприц и инфузионную магистраль. Растворы изучаемых соединений в опытных группах и физиологический раствор в контрольных группах вводили болюсно в бедренную вену за 2 минуты до начала инфузии изопротеренола. Объем болюса всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного. В качестве растворителя использовали апирогенную воду.

ЭКГ во II стандартном отведении регистрировали до начала эксперимента и через 2 минуты после введения исследуемого вещества, а также через 1, 3 и 5 минут после начала

инфузии изопротеренола. О степени ишемии судили по величине «депрессии сегмента ST на ЭКГ во II стандартном отведении через 5 минут от момента начала инфузии изопротеренола» [156] в соответствии с алгоритмом описанным Y. Hiramatsu.

Статистическую обработку полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как полученные данные имели распределение, близкое к нормальному и дисперсии выборок были гомогенны, то для сравнения выборок использовали одно- или двухфакторный дисперсионный анализ с последующей обработкой методом множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу или Даннету (для сравнения всех выборок с одной). Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

2.4.6 Модель субэндокардиальной ишемии, вызванной добутамином

Схема эксперимента повторяла описанную выше в пункте 2.4.5., с тем отличием, что здесь вместо неселективного $\beta_{1,2}$ -адреномиметика (изопротеренола) проводили инфузию селективного β_1 -адреномиметика (добутамина) в дозе 80 мкг/кг/мин [37].

2.4.7 Модель экспериментального инфаркта миокарда

Наркотизированных эфиром (в электрофизиологических исследованиях использовали золетил, 30-50 мг/кг, в/б) крыс фиксировали в положении на спине. Инфаркт миокарда моделировали по методу Ганса Селье (Selye János) [279]. Для этого в пятом межреберье проводили торакотомию, затем перикардотомию. Сердце выводили из грудной клетки и визуализировали левую коронарную артерию, проводили под неё лигатуру и перевязывали в 2-3 мм от выхода артерии из-под левого ушка сердца (у крыс «ложнооперированной» группы лигатуру оставляли не завязанной). Затем сердце возвращали в грудную полость, рану послойно ушивали, с внесением в неё антибиотика. Кожный шов обрабатывали 5% спиртовым раствором йода.

2.4.8 Трансляционная модель постинфарктной хронической сердечной недостаточности

Хроническую сердечную недостаточность (ХСН) моделировали на крысах. Для этой цели использовали одномоментную перевязку левой коронарной артерии непосредственно в месте её выхода из-под ушка сердца, как описано в подпункте 2.4.7. На вторые сутки после воспроизведения инфаркта миокарда проводили эхокардиографические исследования и в дальнейший эксперимент отбирали только тех животных, у которых диагностировался передний

трансмуральный инфаркт миокарда. Критерием формирования постинфарктной ХСН было статистически значимое по сравнению со 2-м днём после перевязки коронарной артерии снижение фракции выброса в сочетании с дилатацией левого желудочка сердца. Показано, что при таком способе моделирования ХСН развивается через 90 дней после перевязки коронарной артерии [18,36].

2.4.9 Модель эндотелиальной дисфункции

Гомоцистеин-индуцированную эндотелиальную дисфункцию у не линейных, белых крыс-самцов воспроизводили по методу предложенному Емельяновым С.Г. [31]. Эндотелиальную дисфункцию вызывали, создавая в организме крыс избыток метионина. С этой целью крысам один раз в сутки в течение 7 дней внутрижелудочно, с помощью зонда, вводили аминокислоту метионин в дозе 3 г/кг. Для удобства внутрижелудочного введения метионина готовили суспензию следующим образом: субстанцию дополнительно механически измельчали до состояния пудры, добавляли эмульгатор TWIN-80, а затем доводили массу до сметанообразной консистенции путем добавления 1% крахмальной слизи. Крысам контрольной группы вводили смесь того же количества TWIN-80 и 1% крахмальной слизи, доведённую дистиллированной водой до объёма, получаемого животными опытными групп. По окончании введения метионина, на 8 сутки, животных брали в эксперимент.

2.4.10 Модель анксиогенеза, индуцированного отменой этанола у крыс с алкогольной зависимостью

На первом этапе у беспородных белых крыс-самцов формировали алкогольную зависимость. Для этого животных опытными групп принудительно алкоголизировали путём предоставления 10% раствора этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 20 недель [25, с.320]. Раз в неделю регистрировали изменение массы тела животных и количество потребляемого этанола. В процессе принудительной алкоголизации крысы потребляли физиологически значимые количества этанола ($4,5 \pm 0,2$ г/кг в пересчёте на этанол). По истечении 20 недель для дальнейших опытов отбирали только крыс со сформировавшейся устойчивой алкогольной мотивацией, оценку которой проводили по показателю среднесуточного потребления этанола в условиях свободного выбора между 10% раствором этанола и водой.

На втором этапе, отобранных крыс (со сформировавшейся устойчивой алкогольной мотивацией) лишали доступа к алкоголю путем замены 10% раствора этанола на воду в качестве единственного источника жидкости в течение последующих четырёх недель. В результате у животных развивалась алкогольная абстиненция, сопровождающаяся выраженной тревожной реакцией (сокращение времени нахождения в открытых рукавах и числа выходов в открытые

рукава лабиринта; описание методики изучения анксиолитической активности см. подпункт 2.3.8) в сравнении с интактными животными того же возраста, не имевшими доступа к раствору этанола. В опытных группах изучаемое вещество растворяли в воде для инъекций, стерилизовали шприцевым фильтром, 0,22 мкм (TRP, Швейцария) и вводили внутривенно раз в сутки в течение периода депривации (4 недели), объем вводимых растворов 1 мл на 1 кг массы животного. Крысы контрольной и интактной групп получали эквивалентный объем апиrogenной воды для инъекций. По истечении 4 недель депривации животных брали в эксперимент [14].

2.5 Статистическая обработка результатов

Полученные в ходе экспериментов данные обрабатывались с помощью программных пакетов для статистического анализа: Microsoft Office Excel 2013, StatSoft Statistica 10, AnalystSoft BioStat 2009 и DoctorStat. Методы статистической обработки выбирались исходя из характера полученных данных и приведены непосредственно в описаниях экспериментальных методик.

2.6 Используемые вещества

- **Субстанции:**
 - Линейные и циклические производные алкоксифенилаалканов (АЛМ-802, АЛМ-803, АЛМ-811, АЛМ-812, АЛМ-815, ЛМ-821, АЛМ-832, АЛМ-833, АЛМ-835, АЛМ-836, ЛМ-263, АЛМ-838, АЛМ-839, АЛМ-840, АЛМ-841, АЛМ-842, АЛМ-843, АЛМ-844, АЛМ-845 см. Приложение 1). ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Россия;
 - Триметазидин. АО «Фармстандарт», Россия;
 - Ранолазина дигидрохлорид. Sigma-Aldrich, Швейцария;
 - Аконитина гидрохлорид. УФИХ РАН, Россия;
 - Бария хлорид. ХимРеактивСнаб, Россия;
 - Изопротеренол. Sigma-Aldrich, США;
 - Метионин-DL. Sigma-Aldrich, Китай.
- **Лекарственные средства:**
 - Верапамил, раствор для в/в введения, 2,5 мг/мл. «Алкалоид АО», Республика Македония;
 - Прокаинамид, раствор для в/в введения, 100 мг/мл. АО «Органика», Россия;
 - Амiodарон, раствор для в/в введения, 50 мг/мл. Sanofi-Aventis, Франция;
 - Кальция хлорид, раствор для в/в введения, 100 мг/мл. ООО «Славянская аптека», Россия;
 - Добутамин, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий. Hexal AG, Германия;
 - Цефазолин, порошок для приготовления раствора в/в или в/м. ОАО «Биосинтез», Россия;
 - Натрия хлорид, раствор для в/в введения, 0,9%. ООО «Мосфарм», Россия;
 - Вода, апиrogenная для инъекций. АО «ПФК Обновление», Россия;
 - Йод, спиртовой раствор для наружного применения, 5%. Фармакс, Россия.
- **Средства для наркоза:**
 - Кетамин. ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия;
 - Уретан. Sigma-Aldrich, Китай;
 - Эфир, для наркоза стабилизированный. ООО «Кузбассоргхим»;
 - Золетил. Virbac, Франция.
- **Реактивы для гистологии:**
 - Формалин, раствор 10%, забуференный, нейтральный. ООО «Биовитрум», Россия.
- **Прочее:**
 - Спирт этиловый, 96%. ООО «Донской», Россия.
 - Крахмал. Химприбор, Россия;
 - Полисорбат-80 (TWEEN-80). ICN Biomedicals Inc., США.

ГЛАВА 3

СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ВЫБОР СОЕДИНЕНИЯ-ЛИДЕРА

3.1 LD₅₀ линейных и циклических алкоксифенилазаалканов

Определение LD₅₀ линейных и циклических алкоксифенилазаалканов проводили как описано в подпункте 2.3.1, статистическую обработку результатов проводили как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых мышах самцах массой 18-25 г. Животные были рандомизированы на 19 групп: группа 1 – «АЛМ-802» (n = 30); группа 2 – «АЛМ-803» (n = 36); группа 3 – «АЛМ-811», (n = 30); группа 4 – «АЛМ-812», (n = 36); группа 5 – «АЛМ-815», (n = 36); группа 6 – «АЛМ-821», (n = 30); группа 7 – «АЛМ-843», (n = 30); группа 8 – «АЛМ-844», (n = 42); группа 9 – «АЛМ-845», (n = 36); группа 10 – «АЛМ-263», (n = 42); группа 11 – «АЛМ-832» (n = 36); группа 12 – «АЛМ-833» (n = 30); группа 13 – «АЛМ-835», (n = 48); группа 14 – «АЛМ-836», (n = 42); группа 15 – «АЛМ-838», (n = 48); группа 16 – «АЛМ-839», (n = 48); группа 17 – «АЛМ-840», (n = 48); группа 18 – «АЛМ-841», (n = 54); группа 19 – «АЛМ-842», (n = 36). Каждое соединение было изучено не менее чем в пяти различных дозах, а каждую дозу изучали на 6 животных. Результаты исследований, представлены в таблицах 3.1 и 3.2.

Таблица 3.1 LD₁₆, LD₅₀, LD₈₄ (и их 95% доверительные интервалы) линейных алкоксифенилазаалканов при внутрибрюшинном введении у мышей, мг/кг.

Группа	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄
АЛМ-802	98,6 (98,2 - 99,0)	118,8 (103,0 - 121,4)	126,9 (126,4 - 127,4)
АЛМ-803	81,0 (76,0-86,0)	131,1 (99,8-172,0)	212,0 (199,0-226,0)
АЛМ-811	63,2 (58,8 - 68,0)	91,7 (68,1 - 123,4)	132,9 (123,6 - 142,9)
АЛМ-812	33,1 (25,1 - 37,6)	62,0 (43,5 - 88,4)	116,2 (102,2 - 132,2)
АЛМ-815	69,0 (67,6 - 70,4)	90,9 (75,9 - 108,8)	119,7 (117,3 - 122,1)
АЛМ-821	123,2 (122,7 - 123,6)	138,3 (128,2 - 149,2)	155,3 (154,7 - 155,8)
АЛМ-843	293,9 (214,5-323,0)	343,2 (308,8-400,5)	400,8 (360,6-611,9)
АЛМ-844	41,4 (18,6-54,4)	64,2 (45,6-80,1)	99,6 (79,9-165,4)
АЛМ-845	58,2 (41,9-66,2)	71,2 (61,1-81,2)	87,1 (77,1-115,4)

Таблица 3.2 LD₁₆, LD₅₀, LD₈₄ (и их 95% доверительные интервалы) циклических алкоксифенилазаалканов при внутрибрюшинном введении у мышей, мг/кг.

Группа	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄
АЛМ-263	84,8 (84,0 - 85,5)	98,5 (89,3 - 108,7)	114,5 (113,6 - 115,5)
АЛМ-832	104,9 (95,8 - 115,0)	161,2 (121,8 - 213,4)	247,8 (226,1 - 271,5)
АЛМ-833	168,1 (164,5 - 171,7)	226,3 (191,3 - 267,8)	304,8 (298,3 - 311,3)
АЛМ-835	404,8 (397,0 - 412,8)	494,9 (441,7 - 554,5)	605,1 (593,4 - 617,0)
АЛМ-836	171,2 (170,8 - 171,7)	188,8 (187,2 - 201,3)	208,2 (207,6 - 208,8)
АЛМ-838	233,2 (230,6 - 235,8)	278,8 (253,8 - 301,9)	328,5 (324,9 - 332,2)
АЛМ-839	517,9 (496,6 - 910,8)	745,7 (606,8 - 916,3)	1073,6 (1023,5 - 1119,6)
АЛМ-840	151,2 (147,1 - 155,4)	192,3 (167,9 - 220,3)	244,6 (238,0 - 251,4)
АЛМ-841	24,8 (23,8 - 25,8)	33,8 (28,4 - 40,1)	45,9 (44,1 - 47,7)
АЛМ-842	117,1 (116,9 - 117,3)	127,2 (120,5 - 134,4)	138,3 (138,0 - 138,6)

Как следует из полученных данных, величина LD₅₀ изучаемых представителей линейных и циклических алкоксифенилазаалканов варьирует в пределах от 33,8 до 745,7 мг/кг. Наибольшей токсичностью обладает производное циклических алкоксифенилазаалканов соединение АЛМ-841, также производное циклических алкоксифенилазаалканов соединение АЛМ-839 проявляет и наименьшую активность. Семь из девятнадцати изученных соединений (АЛМ-811, АЛМ-812, АЛМ-815, АЛМ-844, АЛМ-845, АЛМ-263 и АЛМ-841) относятся к умеренно токсичным веществам (III класс токсичности (LD₅₀ 11-100 мг/кг), тогда как большинство соединений относится к малотоксичным веществам (IV класс токсичности (LD₅₀ 101-1000 мг/кг) [22].

3.2 Скрининговые исследования антиаритмической и антиишемической активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаалканов

3.2.1 Модель аконитиновой аритмии

Хорошо известно, что аритмогенный эффект аконитина связан с его способностью искажать работу быстрых трансмембранных потенциал-зависимых Na⁺ каналов встроенных в клеточную мембрану, преимущественно кардиомиоцитов предсердий. Аконитин имеет высокое

сродство к сайту 2 на α -субъединице Na^+ каналов [300]. В результате взаимодействия аконитина с каналом происходит подавление его конформационных изменений и канал переходит в открытое состояние и как следствие этого из-за постоянного притока ионов Na^+ мембрана кардиомиоцитов остаётся деполяризованной так как не может реполяризоваться. Из-за сильной деполяризации клетки проницаемость её мембраны резко возрастает и для ионов Ca^{2+} , за счёт активности $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ обменника [78], что влечёт за собой перегрузку ими кардиомиоцитов [147]. Помимо этого имеются данные о том, что аконитин подавляет и селективность Na^+ каналов и через них вместо ионов Na^+ в кардиомиоциты начинают транспортироваться ионы более крупного размера, например NH_3^+ [20]. В результате эти изменения приводят к нарушению деполяризации / реполяризации плазматической мембраны, что обуславливает нарушения ритмической функции сердца.

Скрининговые исследования антиаритмической активности соединений из ряда линейных и циклических алкоксифенилазаланканов проводили на модели аконитиновой аритмии, как описано подпункте 2.4.1, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200г. Животные были рандомизированы на 28 групп: группа 1 – «Контроль для АЛМ-802; 811; 812; 815; 821» (физраствор, в/в, n = 11); группа 2 – «АЛМ-802» (1 мг/кг, в/в, n = 8); группа 3 – «АЛМ-811» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 4 – «АЛМ-812» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 5 – «АЛМ-815» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 6 – «АЛМ-821» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 7 – «Контроль для АЛМ-803», (физраствор, в/в, n = 11); группа 8 – «АЛМ-803» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 9 – «Контроль для АЛМ-843; 844», (физраствор, в/в, n = 8); группа 10 – «АЛМ-843» (3 мг/кг, в/в, n = 7); группа 11 – «АЛМ-844» (1 мг/кг, в/в, n = 7); группа 12 – «Контроль для АЛМ-845» (физраствор, в/в, n = 6); группа 13 – «АЛМ-845», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 14 – «Контроль для АЛМ-263; 833», (физраствор, в/в, n = 7); группа 15 – «АЛМ-263», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 16 – «АЛМ-833», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 17 – «Контроль для АЛМ-832; 835; 836», (физраствор, в/в, n = 7); группа 18 – «АЛМ-832», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 19 – «АЛМ-835», (10 мг/кг, в/в, n = 6); группа 20 – «АЛМ-836» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 21 – «Контроль для АЛМ-838» (физраствор, в/в, n = 6); группа 22 – «АЛМ-838», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 23 – «Контроль для АЛМ-839; 840», (физраствор, в/в, n = 8); группа 24 – «АЛМ-839», (8 мг/кг, в/в, n = 6); группа 25 – «АЛМ-840», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 26 – «Контроль для АЛМ-841; 842», (физраствор, в/в, n = 7); группа 27 – «АЛМ-841», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 28 – «АЛМ-842», (2 мг/кг, в/в, n = 7). Результаты исследований, представлены в таблицах 3.3 и 3.4.

Таблица 3.3 Влияние линейных алкоксифенилаалканов на нарушения ритма сердца, вызываемые аконитина гидрохлоридом у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Кол-во крыс с политопной экстрасистолией	p*
Контроль для АЛМ-802; 811; 812; 815; 821	---	11	11	---
АЛМ-802	1	8	0	<0,001
АЛМ-811	1	6	5	0,7
АЛМ-812	1	6	6	1,0
АЛМ-815	1	6	3	0,15
АЛМ-821	1	6	3	0,15
Контроль для АЛМ-803	---	11	11	---
АЛМ-803	1	6	6	1
Контроль для АЛМ-843; 844	---	8	8	---
АЛМ-843	3	7	4	0,16
АЛМ-844	1	7	2	0,014
Контроль для АЛМ-845	---	6	6	---
АЛМ-845	2	6	0	0,002

Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).

Таблица 3.4 Влияние циклических алкоксифенилаалканов на нарушения ритма сердца, вызываемые аконитина гидрохлоридом у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Кол-во крыс с политопной экстрасистолией	p*
Контроль для АЛМ-263; 833	---	7	7	---
АЛМ-263	2	6	0	0,001
АЛМ-833	2	6	3	0,14
Контроль для АЛМ-832; 835; 836	---	7	7	---
АЛМ-832	2	6	4	0,51
АЛМ-835	10	6	3	0,21
АЛМ-836	2	6	3	0,21
Контроль для АЛМ-838	---	6	6	---
АЛМ-838	2	6	6	1

Продолжение таблицы 3.4

Контроль для АЛМ-839; 840	---	8	8	---
АЛМ-839	8	6	1	0,006
АЛМ-840	2	6	0	<0,001
Контроль для АЛМ-841; 842	---	7	7	---
АЛМ-841	2	6	6	1,0
АЛМ-842	2	7	4	0,38
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).				

Из данных, представленных в таблицах 3.3 и 3.4, следует, что в условиях настоящей модели статистически значимой антиаритмической активностью обладают пять соединений из ряда линейных алкоксифенилаалканов (соединения АЛМ-802, АЛМ-815, АЛМ-821, АЛМ-844, АЛМ-845), и три соединения из ряда циклических алкоксифенилаалканов (соединения АЛМ-263, АЛМ-839, АЛМ-840). При этом наибольшую антиаритмическую активность проявили соединения АЛМ-802, АЛМ-845, АЛМ-263 и АЛМ-840.

Можно полагать, что изученные соединения, проявившие антиаритмическое действие в условиях данной экспериментальной модели обладают способностью уменьшать проницаемость мембраны кардиомиоцита для ионов Na^+ , т. е. проявляют свойства антиаритмиков I класса по классификации E.M. Vaughan Williams.

3.2.2 Модель хлоридкальциевой аритмии

Модель хлоридкальциевых аритмий, как инструмент поиска лекарственных средств для лечения нарушений сердечного ритма, широко используется с начала 50-х годов XX века. Изначально полагали, что аритмии, инициируемые CaCl_2 , носят центральный характер и связаны с гиперактивацией сосудодвигательного центра продолговатого мозга [216], однако, эта концепция вызвала определённые возражения, поскольку CaCl_2 инициировал нарушения сердечного ритма и в экспериментах на изолированном сердце [142]. Позднее было показано, что повышенная концентрация ионов Ca^{2+} в клетках синоатриального узла вызывает гиперполяризацию потенциала покоя, а также снижение возбудимости клеток Пуркинье, поскольку они имеют менее отрицательный пороговый потенциал [308]. Кроме того, было показано, что CaCl_2 ускоряет реполяризацию клеток Пуркинье [303]. Это различие приводит к асинхронному восстановлению возбудимости в предсердиях и желудочках сердца, что может способствовать формированию аритмии по типу re-entry. Следует отметить, что в 2020 году была опубликована статья Gou D. с соавт., из материалов которой следует, что CaCl_2 -опосредованные аритмии связаны не с избыточным поступлением в кардиомиоциты экзогенных ионов Ca^{2+} , а с

активацией (гиперфосфорилированием) в них Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII- δ) [136]. Известно, что CaMKII- δ , преобладающая в кардиомиоцитах [159], является одним из ключевых игроков, регулирующих активность множества как цитозольных, так и ядерных мишеней [297]. В частности, избыточное аутофосфорилирование CaMKII инициирует аритмогенез как посредством активации специфичных для кардиомиоцитов рианодиновых рецепторов 2-го типа (RyR2) [76,226], так и путем CaMKII-опосредованной, зависимой от фосфорилирования модуляции активности ворот инактивации, также специфичных для кардиомиоцитов, $Na^+v1.5$ каналов [321]. На данной модели аритмий обычно проявляют активность соединения относящиеся к I и IV класса антиаритмиков по классификации E.M. Vaughan Williams [11].

Скрининговые исследования антиаритмической активности соединений из ряда линейных и циклических алкоксифенилазаланканов проводили на модели хлоридкальциевой аритмии, как описано подпункте 2.4.2, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 220-250г. Животные были рандомизированы на 27 групп: группа 1 – «Контроль для АЛМ-802; 811; 812; 815; 821» (физраствор, в/в, n = 11); группа 2 – «АЛМ-802» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 3 – «АЛМ-811» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 4 – «АЛМ-812» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 5 – «АЛМ-815» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 6 – «АЛМ-821» (1 мг/кг, в/в, n = 7); группа 7 – «Контроль для АЛМ-803», (физраствор, в/в, n = 11); группа 8 – «АЛМ-803» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 9 – «Контроль для АЛМ-843», (физраствор, в/в, n = 7); группа 10 – «АЛМ-843» (3 мг/кг, в/в, n = 7); группа 11 – «Контроль для АЛМ-844; 845» (физраствор, в/в, n = 8); группа 12 – «АЛМ-844» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 13 – «АЛМ-845», (3 мг/кг, в/в, n = 6); группа 14 – «Контроль для АЛМ-263; 832; 833; 836», (физраствор, в/в, n = 9); группа 15 – «АЛМ-263», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 16 – «АЛМ-832», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 17 – «АЛМ-833», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 18 – «АЛМ-836», (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 19 – «Контроль для АЛМ-835» (физраствор, в/в, n = 7); группа 20 – «АЛМ-835» (10 мг/кг, в/в, n = 6); группа 21 – «Контроль для АЛМ-838; 839; 840» (физраствор, в/в, n = 7); группа 22 – «АЛМ-838» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 23 – «АЛМ-839» (8 мг/кг, в/в, n = 6); группа 24 – «АЛМ-840» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 25 – «Контроль для АЛМ-841; 842» (физраствор, в/в, n = 7); группа 26 – «АЛМ-841» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 27 – «АЛМ-842» (2 мг/кг, в/в, n = 6). Результаты исследований, представлены в таблицах 3.5 и 3.6.

Таблица 3.5 Влияние линейных алкоксифенилазаланов на нарушения ритма сердца, вызываемые кальция хлоридом у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Кол-во крыс с фибрилляцией желудочков и асистолией	p*
Контроль для АЛМ-802; 811; 812; 815; 821	---	11	11	---
АЛМ-802	1	6	2	0,03
АЛМ-811	1	6	5	0,7
АЛМ-812	1	6	2	0,03
АЛМ-815	1	6	6	1,0
АЛМ-821	1	7	6	0,78
Контроль для АЛМ-803	---	11	11	---
АЛМ-803	1	6	2	0,006
Контроль для АЛМ-843	---	7	7	---
АЛМ-843	3	7	2	0,021
Контроль для АЛМ-844; 845	---	8	8	---
АЛМ-844	1	6	2	0,030
АЛМ-845	2	6	5	0,8
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).				

Таблица 3.6 Влияние циклических алкоксифенилазаланов на нарушения ритма сердца, вызываемые кальция хлоридом у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Кол-во крыс с фибрилляцией желудочков и асистолией	p*
Контроль для АЛМ-263; 832; 833; 836	---	9	9	---
АЛМ-263	2	6	5	0,8
АЛМ-832	2	6	5	0,8
АЛМ-833	2	6	6	1,0
АЛМ-836	2	6	3	0,18
Контроль для АЛМ-835	---	7	7	---
АЛМ-835	10	6	4	0,19

Продолжение таблицы 3.6

Контроль для АЛМ-838; 839; 840	---	7	7	---
АЛМ-838	2	6	4	0,57
АЛМ-839	8	6	2	0,063
АЛМ-840	2	6	5	0,92
Контроль для АЛМ-841; 842	---	7	7	---
АЛМ-841	2	6	6	1,0
АЛМ-842	2	6	5	0,92
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).				

Из данных, представленных в таблицах 3.5 и 3.6, следует, что в условиях настоящей модели статистически значимой антиаритмической активностью обладают пять соединений из ряда линейных алкоксифенилаалканов, а именно соединения АЛМ-802, АЛМ-812, АЛМ-803, АЛМ-843 и АЛМ-844.

3.2.3 Модель реперфузионной аритмии

Безусловно, в условиях острой ишемии миокарда реперфузия целесообразна, поскольку позволяет не только восстановить доставку кислорода и питательных веществ, необходимых для поддержания нормального клеточного метаболизма, но и удалить из зоны ишемии, накопившиеся в ней, токсические продукты. Однако, как не парадоксально, реперфузия сама по себе может спровоцировать дальнейшее повреждение кардиомиоцитов, в частности инициировать развитие злокачественных нарушений сердечного ритма. Реперфузионное повреждение миокарда было впервые описано Робертом Дженнингсом в 1960 году [170]. Через 15-20 секунд после окклюзии коронарного сосуда кардиомиоциты переходят с аэробного на анаэробный гликолиз, который становится единственным значимым источником АТФ, однако это приводит к накоплению лактата и, следовательно, понижению внутриклеточного рН (до <7,0) вследствие накопления в цитозоле избыточного количества протонов [153]. Реперфузия сопровождается быстрым восстановлением внутриклеточного рН за счёт активации сарколемного Na^+/H^+ ионообменника, который выводит протоны из клетки в обмен на поступление в цитозоль ионов Na^+ [153, 193]. Возникающее в результате этого увеличение содержания в цитозоле кардиомиоцитов ионов Na^+ , в свою очередь, активирует сарколемный $2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ионообменник, функционирующий за счёт градиента концентрации ионов, что приводит к обмену внутриклеточных ионов Na^+ на внеклеточные ионы Ca^{2+} [70] с высокой скоростью (2500-5000 $\text{Ca}^{2+}/\text{сек}$ -1), в то время как активность Ca^{2+} -АТФазы, имеющей даже в

физиологических условиях на порядок более низкую скорость вывода ионов Ca^{2+} , из цитоплазмы, в условиях дефицита макроэргов весьма ограничена [78]. Высокая скорость работы $2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ионообменника может в конечном итоге привести к перегрузке кардиомиоцитов ионами которые, в частности, инициируют выработку АФК в митохондриях [55,223]. Показано, что при реперфузии главным источником АФК становятся митохондрии, что происходит в результате открытия Ca^{2+} -зависимой неспецифической митохондриальной поры (mPTP). Главным активатором mPTP в условиях реперфузии являются ионы Ca^{2+} , при этом чувствительность к ионам Ca^{2+} многократно увеличивается в условиях сопутствующего реперфузии окислительного стресса [74]. Этот феномен получил название АФК-индуцированный выход АФК («ROS - induced ROS releas» или RIRR) [351]. Избыточное накопление ионов Ca^{2+} и выработка АФК создают идеальную внутриклеточную среду для активации СаМКП, которая играет главную роль в генерации реперфузионных аритмий [203]. Свои аритмогенные эффекты СаМКП реализует посредством фосфорилирования и последующей активации RyR2 [60]. Известно, что на данной модели наиболее эффективными являются антиаритмики IA, IC и IV класса по классификации E.M. Vaughan Williams [25, с.395].

Скрининговые исследования антиаритмической активности соединений из ряда линейных и циклических алкоксифенилазаалканов проводили на модели реперфузионных аритмий, как описано подпункте 2.4.4, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 220-250 г. Животные были рандомизированных на 27 групп: группа 1 – «Контроль для АЛМ-802; 812; 815» (физраствор, в/в, n = 10); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 13); группа 3 – «АЛМ-812» (2 мг/кг, в/в, n = 12); группа 4 – «АЛМ-815» (2 мг/кг, в/в, n = 13); группа 5 – «Контроль для АЛМ-803» (физраствор, в/в, n = 11); группа 6 – «АЛМ-803» (1 мг/кг, в/в, n = 7); группа 7 – «Контроль для АЛМ-811; 821», (физраствор, в/в, n = 13); группа 8 – «АЛМ-811» (2 мг/кг, в/в, n = 12); группа 9 – «АЛМ-821», (2 мг/кг, в/в, n = 12); группа 10 – «Контроль для АЛМ-843; 844; 845» (физраствор, в/в, n = 8); группа 11 – «АЛМ-843» (3 мг/кг, в/в, n = 8); группа 12 – «АЛМ-844» (1 мг/кг, в/в, n = 8); группа 13 – «АЛМ-845» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 14 – «Контроль для АЛМ-263; 833; 836» (физраствор, в/в, n = 10); группа 15 – «АЛМ-263» (2 мг/кг, в/в, n = 13); группа 16 – «АЛМ-833» (2 мг/кг, в/в, n = 14); группа 17 – «АЛМ-836» (2 мг/кг, в/в, n = 14); группа 18 – «Контроль для АЛМ-832; 835» (физраствор, в/в, n = 17); группа 19 – «АЛМ-832» (2 мг/кг, в/в, n = 14); группа 20 – «АЛМ-835» (10 мг/кг, в/в, n = 14); группа 21 – «Контроль для АЛМ-838; 839; 840» (физраствор, в/в, n = 11); группа 22 – «АЛМ-838» (2 мг/кг, в/в, n = 10); группа 23 – «АЛМ-839» (8 мг/кг, в/в, n = 10); группа 24 – «АЛМ-840» (2 мг/кг, в/в, n = 10); группа 25 – «Контроль для АЛМ-841; 842»

(физраствор, в/в, n = 11); группа 26 – «АЛМ-841» (2 мг/кг, в/в, n = 10); группа 27 – «АЛМ-842» (2 мг/кг, в/в, n = 10). Результаты исследований, представлены в таблицах 3.7 и 3.8.

Таблица 3.7 Влияние линейных алкоксифенилаалканов на жизнеугрожающие нарушения ритма сердца, вызываемые окклюзией / реперфузией коронарной артерии у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Кол-во крыс с ЖТ и/или ФЖ	p*
Контроль для АЛМ-802; 812; 815	---	10	10	---
АЛМ-802	2	13	2	<0,001
АЛМ-812	2	12	6	0,046
АЛМ-815	2	13	8	0,14
Контроль для АЛМ-803	---	11	10	---
АЛМ-803	1	7	6	1,0
Контроль для АЛМ-811; 821	---	13	12	---
АЛМ-811	2	12	2	<0,001
АЛМ-821	2	12	5	0,022
Контроль для АЛМ-843; 844; 845	---	8	8	---
АЛМ-843	3	8	7	1,0
АЛМ-844	1	8	6	0,9
АЛМ-845	2	8	8	1,0

Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру); ЖТ – желудочковая тахикардия; ФЖ – фибрилляция желудочков.

Таблица 3.8 Влияние циклических алкоксифенилаалканов на жизнеугрожающие нарушения ритма сердца, вызываемые окклюзией / реперфузией коронарной артерии у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Кол-во крыс с ЖТ и/или ФЖ	p – по отношению к контролю
Контроль для АЛМ-263; 833; 836	---	10	10	---
АЛМ-263	2	13	11	1,0
АЛМ-833	2	14	12	1,0
АЛМ-836	2	14	9	0,16
Контроль для АЛМ-832; 835	---	17	16	---
АЛМ-832	2	14	10	0,30
АЛМ-835	10	14	11	0,60

Продолжение таблицы 3.8

Контроль для АЛМ-838; 839; 840	---	11	10	---
АЛМ-838	2	10	9	1,0
АЛМ-839	8	10	8	1,0
АЛМ-840	2	10	8	1,0
Контроль для АЛМ-841; 842	---	11	10	---
АЛМ-841	2	10	7	0,62
АЛМ-842	2	10	8	1,0
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру); ЖТ – желудочковая тахикардия; ФЖ – фибрилляция желудочков.				

Из данных, представленных в таблицах 3.7 и 3.8, следует, что в условиях настоящей модели статистически значимой антиаритмической активностью обладают три соединения из ряда линейных алкоксифенилазаалканов, а именно соединения АЛМ-802, АЛМ-811, АЛМ-821.

3.2.4 Модель субэндокардиальной ишемии

Известно, что кровоснабжение сердца осуществляется во время диастолы [101], в силу этого продолжительность диастолы играет ключевую роль в поддержании адекватной доставки кислорода и питательных веществ к кардиомиоцитам. Особенно это касается наиболее чувствительных к дефициту кислорода субэндокардиальных отделов миокарда. Инфузия неселективного $\beta_{1,2}$ -адреномиметика изопротеренола путем активации β_1 -адренорецепторов, встроенных в клеточную мембрану кардиомиоцитов синоатриального узла, инициирует резкое увеличение ЧСС, что сопровождается значимым укорочением диастолы, а активации β_1 -адренорецепторов, встроенных в клеточную мембрану сократительных кардиомиоцитов (преимущественно желудочков сердца), вызывает резкое увеличение инотропной функции сердечной мышцы, что ведёт к резкому увеличению её потребности в кислороде. Другими словами, инфузия изопротеренола создаёт условия для развития субэндокардиальной ишемии.

Скрининговые исследования антиишемической активности соединений из ряда линейных и циклических алкоксифенилазаалканов проводили на модели субэндокардиальной ишемии миокарда вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком – изопротеренолом, как описано подпункте 2.4.5, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах масс 220-240 г. Животные были рандомизированны на 22 группы: группа 1 – «Контроль для АЛМ-802; 811; 812; 815; 821; 803» (физраствор, в/в, n = 16); группа 2 – «АЛМ-802» (1 мг/кг, в/в, n = 7); группа 3 – «АЛМ-811» (1 мг/кг, в/в, n = 5); группа 4 – «АЛМ-812» (1 мг/кг, в/в, n = 5); группа 5 – «АЛМ-815» (1 мг/кг,

в/в, n = 7); группа 6 – «АЛМ-821» (1 мг/кг, в/в, n = 7); группа 7 – «АЛМ-803» (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 8 – «Контроль для АЛМ-843; 844; 845» (мг/кг, в/в, n = 9); группа 9 – «АЛМ-843», (3 мг/кг, в/в, n = 8); группа 10 – «АЛМ-844» (1 мг/кг, в/в, n = 8); группа 11 – «АЛМ-845» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 12 – «Контроль для АЛМ-832; 835; 836» (физраствор, в/в, n = 8); группа 13 – «АЛМ-832» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 14 – «АЛМ-835» (10 мг/кг, в/в, n = 8); группа 15 – «АЛМ-836» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 16 – «Контроль для АЛМ-838; 839; 840» (физраствор, в/в, n = 6); группа 17 – «АЛМ-838» (2 мг/кг, в/в, n = 9); группа 18 – «АЛМ-839» (8 мг/кг, в/в, n = 7); группа 19 – «АЛМ-840» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 20 – «Контроль для АЛМ-841; 842» (физраствор, в/в, n = 6); группа 21 – «АЛМ-841» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 22 – «АЛМ-842» (2 мг/кг, в/в, n = 8). Результаты исследований, представлены в таблицах 3.9 и 3.10.

Таблица 3.9 Влияние линейных алкоксифенилаалканов на депрессию сегмента ST во II стандартном отведении ЭКГ, вызванную изопротеренолом (20 мкг/кг/мин в течение 5 мин, в/в) у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Депрессия сегмента ST через 5 минут инфузии изопротеренола, мВ*	p [#]
Контроль для АЛМ-802; 811; 812; 815; 821; 803	---	16	-0,20±0,02	---
АЛМ-802	1	7	-0,01±0,01	0,001
АЛМ-811	1	5	-0,06±0,02	0,025
АЛМ-812	1	5	-0,08±0,02	0,020
АЛМ-815	1	7	-0,11±0,02	0,109
АЛМ-821	1	7	-0,09±0,02	0,025
АЛМ-803	1	6	-0,17±0,03	>0,05
Контроль для АЛМ-843; 844; 845	---	9	-0,15±0,02	---
АЛМ-843	3	8	-0,11±0,01	0,065
АЛМ-844	1	8	-0,06±0,01	<0,001
АЛМ-845	2	8	-0,03±0,01	<0,001
Примечание – * – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; [#] – по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).				

Из данных, представленных в таблицах 3.9 и 3.10, следует, что в условиях настоящей модели статистически значимой антиишемической активностью обладают шесть соединений из ряда линейных алкоксифенилаалканов, а именно соединения АЛМ-802, АЛМ-811, АЛМ-812, АЛМ-821, АЛМ-844 и АЛМ-845.

Таблица 3.10 Влияние циклических алкоксифенилазаалканов на депрессию сегмента ST во II стандартном отведении ЭКГ, вызванную изопротеренолом (20 мкг/кг/мин в течение 5 мин, в/в) у крыс.

Группа	Доза, мг/кг	n	Депрессия сегмента ST через 5 минут инфузии изопротеренола, мВ*	p [#]
Контроль для АЛМ-832; 835; 836	---	8	-0,14±0,02	---
АЛМ-832	2	8	-0,14±0,03	0,999
АЛМ-835	10	8	-0,14±0,03	0,912
АЛМ-836	2	8	-0,12±0,04	0,999
Контроль для АЛМ-838; 839; 840	---	6	-0,13±0,02	---
АЛМ-838	2	9	-0,12±0,02	0,855
АЛМ-839	8	7	-0,07±0,05	0,327
АЛМ-840	2	8	-0,09±0,03	0,769
Контроль для АЛМ-841; 842	---	6	-0,11±0,02	---
АЛМ-841	2	8	-0,12±0,02	0,621
АЛМ-842	2	8	-0,09±0,03	0,888

Примечание – * – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; [#] – по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

3.3 Изучение взаимосвязи структура-эффект в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаалканов

3.3.1 Изучение влияния расположения фармакоформных элементов на токсичность изучаемых соединений

В ряду исследуемых веществ более токсичными оказались соединения, содержащие линейный линкер (АЛМ-802, АЛМ-803, АЛМ-811, АЛМ-812, АЛМ-815, АЛМ-821, АЛМ-843, АЛМ-844 и АЛМ-855). Значения LD₅₀ для большинства из них находились в диапазоне от 62 до 138 мг/кг. Исключение составляло соединение АЛМ-843 с LD₅₀ 343,2 мг/кг. У соединений с циклическим фрагментом в линкере (АЛМ-263, АЛМ-832, АЛМ-833, АЛМ-835, АЛМ-836, АЛМ-838, АЛМ-839, АЛМ-840, АЛМ-841 и АЛМ-842) в целом токсичность была существенно

меньше: LD₅₀ от 161,2 до 745,7 мг/кг, за исключением соединений АЛМ-263 (LD₅₀ 98,5 мг/кг), АЛМ-841 (LD₅₀ 33,8 мг/кг) и АЛМ-842 (LD₅₀ 127,2 мг/кг).

Анализ влияния структур на токсичность соединений внутри подгрупп линейных и циклических алкоксифенилаалканов показывает, что наиболее токсичными были вещества, содержащие одновременно алкокси-заместители в орто-положениях арильных групп и не содержащие их в мета-положениях. Значения LD₅₀ для соединений с таким строением составляли от 33,8 до 188,8 мг/кг. Наименее токсичными были вещества без заместителей в орто-положениях ароматических групп, но содержащие мета- и пара-метокси группы (LD₅₀ 133,1-745,7 мг/кг).

3.3.2 Изучение влияния расположения фармакоформных элементов на антиаритмическую активность изучаемых соединений

Анализ антиаритмической активности исследуемых веществ на модели аконитиновой аритмии показал, что статистически значимо препятствовали развитию аритмий соединения из групп линейных алкоксифенилаалканов и пиперазин-содержащих циклических алкоксифенилаалканов. При этом в группе с циклическим линкером отсутствовала активность у производных пиперазин-2,3-диона (АЛМ-832, АЛМ-833, АЛМ-835, АЛМ-836), за исключением этокси-производного АЛМ-263.

В подгруппе линейных алкоксифенилаалканов наиболее активными были производные с 2,3,4-триметоксифенильными группами (АЛМ-802, АЛМ-844, АЛМ-845). Активность также была выявлена у веществ с 2,3-диметоксифенильными группами (АЛМ-815) и с 2,5-диметоксифенильными группами (АЛМ-821).

В подгруппе пиперазин-содержащих циклических алкоксифенилаалканов активными были лишь соединения с триметоксифенильными группами. При этом антиаритмическими свойствами обладало как 2,3,4-триметокси-производное АЛМ-840, так и 3,4,5-триметоксипроизводное АЛМ-839.

Несколько иная картина наблюдалась при анализе связи «структура-активность» на модели хлоридкальциевой аритмии. В этом случае в группе циклических алкоксифенилаалканов ни одно из веществ не проявляло активность.

Среди линейных алкоксифенилаалканов активными были соединения с 2,3,4-триметоксифенильными заместителями (АЛМ-802 и АЛМ-844), 3,4,5-триметокси-производное АЛМ-802 и 2,4- и 3,4-диметокси-производные (АЛМ-812 и АЛМ-843). Таким образом, ключевым фактором для наличия активности на модели хлоридкальциевой аритмии являлось присутствие в ароматических кольцах пара-метокси-группы.

На модели реперфузионных аритмий циклические алкоксифенилаалканы также были полностью лишены активности. При этом среди линейных алкоксифенилаалканов статистически значимо препятствовали развитию аритмий только 2,3,4-триметокси-производные АЛМ-802 и АЛМ-811, отличающиеся длиной линкера на одно метиленовое звено, и 2,5-диметокси-производное АЛМ-821.

3.3.3 Изучение влияния расположения фармакоформных элементов на антиишемическую активность изучаемых соединений

При анализе связи «структура-антиишемическая активность» в ряду линейных и циклических алкоксифенилаалканов было установлено, что эффективными были только соединения с линейным линкером, в то время как введение пиперазинового или пиперазин-2,3-дионового фрагментов приводило к полному исчезновению активности. При этом, также как и в случае антиаритмической активности, лучшие результаты в группе линейных алкоксифенилаалканов были получены для 2,3,4-триметокси-замещенных соединений (АЛМ-802, АЛМ-844, АЛМ-845, АЛМ-811). При этом длина связывающих ароматический группы линейного линкера и его строение могли быть достаточно широко проварьированы. Также антиишемическая активность была зафиксирована у 2,4- и 2,5-диметоксипроизводных АЛМ-812 и АЛМ-821. Таким образом, важным для наличия противоишемического действия у линейных алкоксифенилаалканов являлось наличие метокси-группы в орто-положениях фенильных колец и хотя бы одной метокси-группы в мета- или пара-положениях.

3.4 Выбор соединения-лидера

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что наибольшей кардиотропной активностью обладает соединение АЛМ-802, которое эффективно препятствует развитию нарушений сердечного ритма на моделях аконитиновой ($p < 0,001$), хлоридкальциевой ($p = 0,008$) и реперфузионных ($p < 0,001$) аритмий и модели субэндокардиальной ишемии ($p < 0,001$). Наиболее близким по спектру кардиотропной активности к соединению АЛМ-802 является соединение АЛМ-844, которое препятствует развитию нарушений сердечного ритма на моделях аконитиновой ($p < 0,014$) и хлоридкальциевой ($p < 0,045$) аритмий, а также на модели

субэндокардиальной ишемии ($p < 0,001$), однако оно не эффективно на модели реперфузионных аритмий ($p > 0,05$) и в ~2 раза токсичнее соединения АЛМ-802.

Таким образом, в результате скрининга кардиотропной активности в ряду производных линейных и циклических алкоксифенилазаалканов выбрано соединение N1–(2,3,4-триметоксибензил)-N2–{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ-802), которое по своей целевой активности существенно превосходит все остальные изученные соединения.

По результатам проведённых скрининговых исследований:

Получен патент РФ:

– Патент № 2751878 С2. – EDN ISWNLM.

Опубликовано 6 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

- Синтез и кардиотропная активность линейных метоксифенилтриазаалканов / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, В. В. Барчуков [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 6. – С. 16-23. – DOI 10.30906/0023-1134-2019-53-6-16-23.
- Синтез и кардиотропная активность циклических метоксифенилтриазаалканов / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, В. В. Барчуков [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 7. – С. 7-12. – DOI 10.30906/0023-1134-2019-53-7-7-12.
- Синтез и кардиотропная активность 1-(метоксибензил)-4-[2-((метоксибензил)амино)этил]пиперазинов / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, В. В. Барчуков [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 9. – С. 9-14. – DOI 10.30906/0023-1134-2019-53-9-9-14.
- Влияние строения ароматических групп алкоксифенилтриазаалканов на их кардиотропную активность / Г.В. Мокров, А.М. Лихошерстов, А.С. Пантлеев [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54, № 4. – С. 3-9. – DOI 10.30906/0023-1134-2020-54-4-3-9. 10.30906/0023-1134-2020-54-4-3-9
- Синтез и кардиотропная активность бис-(2,3,4-триметоксибензил)алкандиаминов / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, Е. И. Барчукова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55, № 4. – С. 19-24. – DOI 10.30906/0023-1134-2021-55-4-19-24.
- Исследование антиаритмической активности линейных алкоксифенилазаалканов на модели реперфузионных аритмий у крыс / В. В. Барчуков, В. Н. Столярук, И. Б. Цорин, [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – № 2. – С. 20-28. – DOI 10.37489/2587-7836-2023-2-20-28

Опубликовано 2 статьи в научных журналах входящих в РИНЦ:

- Исследование влияния положения метокси-группы на кардиотропную активность соединения АЛМ-802 / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, В. В. Барчуков [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 1. – С. 6-11. – DOI 10.24411/2587-7836-2019-10033.
- Исследование кардиотропной активности орто-алкокси аналогов соединения АЛМ-802 / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, В. В. Барчуков [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 4. – С. 18-23. – DOI 10.37489/2587-7836-2019-4-18-23.

Опубликованы тезисы доклада в материалах научного съезда:

- Синтез и кардиотропная активность линейных метоксифенилтриазаалканов / Г. В. Мокров, А. М. Лихошерстов, В. В. Барчуков [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 162-163. – DOI 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-162-163.

ГЛАВА 4

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ И СПЕКТРА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ АЛМ-802

4.1 Изучение доза-зависимых эффектов соединения-лидера

Изучение доза-зависимых эффектов соединения АЛМ-802, проводили на модели аконитиновой аритмии, как описано подпункте 2.4.1. Статистическую обработку результатов проводили как описано в подпунктах 2.3.1 и 2.4.1. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200 г. Животные были рандомизированны на 9 групп: группа 1 – «контроль для дозы 0,1; 0,25; 0,35; 0,5 мг/кг» (физраствор, в/в, n = 6); группа 2 – «АЛМ-802 0,1 мг/кг», (0,1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 3 – «АЛМ-802 0,25 мг/кг», (0,25 мг/кг, в/в, n = 6); группа 4 – «АЛМ-802 0,35 мг/кг», (0,35 мг/кг, в/в, n = 6); группа 5 – «АЛМ-802 0,5 мг/кг», (0,5 мг/кг, в/в, n = 6); группа 6 – «контроль для дозы 1; 3; 5 мг/кг», (физраствор, в/в, n = 7); группа 7 – «АЛМ-802 1 мг/кг», (1 мг/кг, в/в, n = 6); группа 8 – «АЛМ-802 3 мг/кг», (3 мг/кг, в/в, n = 6); группа 9 – «АЛМ-802 5 мг/кг», (5 мг/кг, в/в, n = 6). Результаты исследований, представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Доза-зависимый эффект соединения АЛМ-802 на модели аконитиновой аритмии.

Группа	Доза, мг/кг, в/в	n	Кол-во крыс с политопной экстрасистолией	p*
Контроль для дозы 0,1; 0,25; 0,35; 0,5 мг/кг	---	6	6	---
АЛМ-802	0,1	6	6	>0,05
АЛМ-802	0,25	6	5	>0,05
АЛМ-802	0,35	6	3	>0,05
АЛМ-802	0,5	6	1	0,03
Контроль для дозы 1; 3; 5 мг/кг	---	7	7	---
АЛМ-802	1	6	1	0,019
АЛМ-802	3	6	1	0,019
АЛМ-802	5	6	1	0,019
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).				

По методу Литчфилда-Уилкоксона была рассчитана эффективная доза (с 95% доверительными интервалами): ED₁₆ = 0,125 (0,1-0,155) мг/кг, ED₅₀ = 0,273 (0,168-0,441) мг/кг и ED₈₄ = 0,593 (0,477-0,738) мг/кг, что позволяет определить терапевтический индекс соединения АЛМ-802 (TI = LD₅₀ / ED₅₀), который составил 435,2, что свидетельствует о том, что соединение АЛМ-802 имеет большую терапевтическую широту.

4.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на структуру ЭКГ, артериальное и венозное давление

4.2.1 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на структуру ЭКГ.

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на структуру ЭКГ проводили, как описано в подпункте 2.3.4, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 210-220г (n=6). Результаты исследований, представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) структуру ЭКГ у крыс.

Время после введения, мин.	Интервалы ЭКГ, с*				
	RR	PQ	QRS	QT	QTc
Исходный уровень	0,125 (0,116; 0,140)	0,046 (0,046; 0,049)	0,020 (0,019; 0,020)	0,070 (0,064; 0,074)	0,192 (0,188; 0,200)
5	0,158[#] (0,152; 0,167)	0,056[#] (0,056; 0,058)	0,023[#] (0,022; 0,023)	0,081[#] (0,080; 0,088)	0,207 (0,197; 0,211)
10	0,136[#] (0,135; 0,152)	0,054[#] (0,054; 0,056)	0,021[#] (0,019; 0,022)	0,073[#] (0,070; 0,076)	0,194 (0,190; 0,204)
15	0,133 (0,123; 0,145)	0,053[#] (0,052; 0,054)	0,020 (0,018; 0,022)	0,072[#] (0,066; 0,078)	0,197 (0,188; 0,204)
20	0,131 (0,188; 0,142)	0,051[#] (0,049; 0,052)	0,020 (0,018; 0,020)	0,070 (0,062; 0,076)	0,194 (0,181; 0,202)
30	0,128 (0,118; 0,139)	0,049 (0,048; 0,050)	0,019 (0,016; 0,021)	0,071 (0,065; 0,076)	0,198 (0,192; 0,204)
45	0,131 (0,120; 0,149)	0,049 (0,046; 0,050)	0,019 (0,018; 0,020)	0,070 (0,066; 0,078)	0,194 (0,190; 0,207)

Продолжение таблицы 4.2

60	0,142 (0,120; 0,158)	0,048 (0,046; 0,050)	0,019 (0,018; 0,020)	0,07 (0,068; 0,078)	0,195 (0,191; 0,199)
Примечание – * – показаны медианы и в скобках, нижний и верхний квартили, соответственно; # – $p < 0,05$ по отношению к исходному уровню (по Фридману с дальнейшей обработкой по Даннетту).					

Как следует из полученных данных, в первые 10 минут после введения соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) развивается относительная брадикардия, наиболее выраженная в 5 минут, однако брадикардия носит обратимый характер и к 10 минуте после введения соединения урежение пульса не превышает 8%, что не критично и характерно, для большинства соединений обладающих выраженной антиаритмической активностью. Анализ результатов полученных в этой серии экспериментов позволяет сделать важное заключение о том, что по всей видимости, соединение АЛМ-802 не обладает проаритмической активностью [25, с.410-411] поскольку на его фоне скорректированный интервал QT (QTc) практически не изменяется. Даже на фоне максимального урежения ЧСС наблюдаемого на 5-й минуте после инъекции соединения АЛМ-802 увеличение QTc не превышает 7% (таблица 4.2.). В дальнейшем величина QTc практически не отличается от исходных значений.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 у интактных животных не оказывает существенного влияния на структуру ЭКГ.

4.2.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на артериальное и венозное давление

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на артериальное давление как описано в подпункте 2.3.5, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 240-260г (n=9). Результаты исследований, представлены в таблице 4.3 и на рисунке 4.1.

Как следует из полученных данных, соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) влияет на показатели характеризующие уровень артериального и венозного давления в минимальной степени. Так, например, систолическое артериальное давление к 5-ой минуте снижается на 8%, пульсовое на 15%, а венозное на 10% (таблица 4.3, рисунок 4.1). К 10-й минуте все показатели возвращаются к исходным величинам.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 у интактных животных не оказывает существенного влияния на величину артериального и венозного давления.

Таблица 4.3 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) на показатели артериального и венозного давления у крыс.

Время после введения, мин.	Показатель, мм.рт.ст.*				
	систолическое АД	диастолическое АД	среднее АД	пульсовое АД	венозное давление
Исходный уровень	134,8 ± 2,2	78,4 ± 3,7	96,3 ± 3,1	56,4 ± 5,0	2,58 ± 0,07
5	124,5 ± 3,1[#]	58,5 ± 3,4[#]	81,6 ± 3,0[#]	66,0 ± 4,2[#]	2,31 ± 0,06[#]
10	134,9 ± 3,1	71,6 ± 4,1[×]	93,1 ± 3,4	63,2 ± 5,3[×]	2,53 ± 0,07
15	137,3 ± 3,3	75,3 ± 3,4	95,8 ± 3,0	62,0 ± 5,0	2,63 ± 0,07
20	138,0 ± 3,6	76,1 ± 3,9	95,7 ± 3,8	61,8 ± 4,9	2,61 ± 0,07
30	136,2 ± 2,8	72,7 ± 4,1	91,7 ± 3,4	63,5 ± 5,3	2,56 ± 0,06

Примечание – * – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; [#] – p < 0,001, [×] – p < 0,05 по отношению к исходному уровню (дисперсионный анализ повторных измерений с дальнейшей обработкой по Даннету).

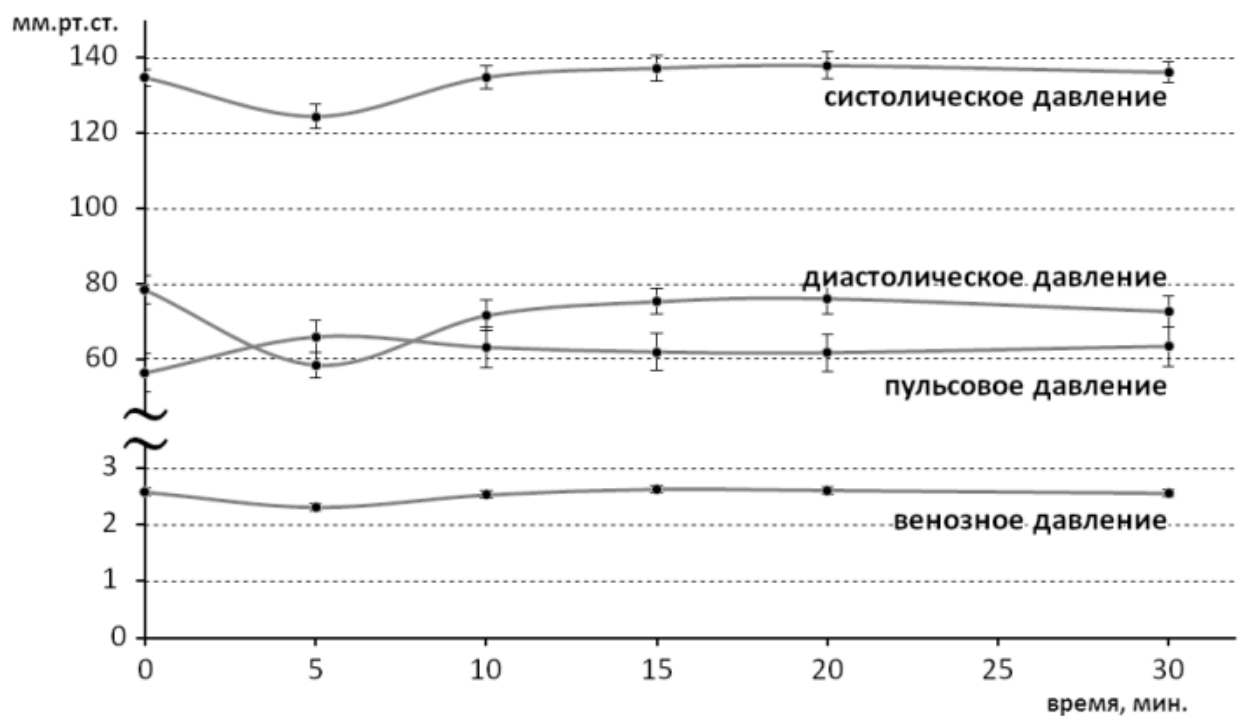


Рисунок 4.1 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) на показатели артериального и венозного давления у крыс

Примечание – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки.

4.3 Сравнительное изучение целевой активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов.

4.3.1 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели аконитиновой аритмии

Антиаритмическую эффективность соединения АЛМ-802 сравнивали с таковой для эталонного для этой модели антиаритмика IA класса по классификации E.M. Vaughan Williams – прокаинамида [25, с.386], а также с антиаритмической активностью рFOX-ингибиторов триметазида и ранолазина. Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов проводили на модели аконитиновой аритмии, как описано в подпункте 2.4.1, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200г. Животные были рандомизированы на 5 групп: группа 1 – «контроль» (физиологический раствор, в/в, n = 10); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 3 – «Триметазидин», (30 мг/кг, в/в, n = 6); группа 4 – «Ранолазин», (10 мг/кг, в/в, n = 6); группа 5 – «Прокаинамид» (20 мг/кг, в/в, n = 6). Результаты исследований, представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Влияние соединения АЛМ-802 и препаратов сравнения на нарушения ритма сердца, вызываемые аконитина гидрохлоридом у крыс.

Группа	Доза, мг/кг, в/в	n	Кол-во крыс с фибрилляцией желудочков и асистолией	p*
Контроль	---	10	10	---
АЛМ-802	2	6	0	0,0004
Триметазидин	30	6	6	>0,05
Ранолазин	10	6	6	>0,05
Прокаинамид	20	6	1	0,0056
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).				

Как следует из полученных данных, соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в), проявляет выраженную антиаритмическую активность сопоставимую с таковой для эталонного для этой модели антиаритмика IA класса по классификации E.M. Vaughan Williams – прокаинамидом. Эталонные рFOX-ингибиторы – триметазидин и ранолазин, на этой модели оказались не эффективны.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 потенциально обладает свойствами антиаритмических лекарственных средств относящихся к IA классу антиаритмиков по классификации E.M. Vaughan Williams, т.е. проявляет способность блокировать трансмембранные потенциалзависимые быстрые Na⁺ каналы, встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов.

4.3.2 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели хлоридкальциевой аритмии

Антиаритмическую эффективность соединения АЛМ-802 сравнивали с таковой для эталонного для этой модели антиаритмика VI класса по классификации E.M. Vaughan Williams – верапамила [25, с.387], а также с антиаритмической активностью рFOX-ингибиторов триметазидина и ранолазина. Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели хлоридкальциевой аритмии, как описано в подпункте 2.4.2, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 220-250г. Животные были рандомизированы на 7 групп: группа 1 – «контроль для АЛМ-802» (физраствор, в/в, n = 9); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 3 – «контроль для триметазидина и ранолазина» (физраствор, в/в, n = 8); группа 4 – «триметазидин», (30 мг/кг, в/в, n = 6); группа 5 – «ранолазин», (10 мг/кг, в/в, n = 7); группа 6 – «контроль для верапамила» (физраствор, в/в, n = 8); группа 7 – «верапамил» (1 мг/кг, в/в, n = 6). Результаты исследований представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Влияние соединения АЛМ-802 и препаратов сравнения на нарушения ритма сердца, вызываемые кальция хлоридом у крыс.

Шифр соединения	Доза, мг/кг, в/в	n	Кол-во крыс с фибрилляцией желудочков и асистолией	p*
Контроль для АЛМ-802	---	9	9	---
АЛМ-802	2	6	0	<0,001
Контроль для триметазидина и ранолазина	---	8	8	---
Триметазидин	30	6	5	>0,05
Ранолазин	10	7	3	0,0513
Контроль для верапамила	---	8	8	---
Верапамил	1	6	2	0,015
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру).				

Как следует из полученных данных в условиях настоящей модели соединение АЛМ-802 обладает выраженной антиаритмической активностью превосходящей таковую для эталонного на этой модели антиаритмика VI класса по классификации E.M. Vaughan Williams – верапамила и рFOX ингибитора ранолазина. рFOX ингибитор – триметазинин на этой модели оказался не эффективен.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 потенциально обладает свойствами антиаритмических лекарственных средств относящихся к I и IV классу антиаритмиков по классификации E.M. Vaughan Williams, то есть проявляет способность блокировать не только трансмембранные потенциалзависимые быстрые Na^+ каналы, но и медленные трансмембранные потенциалзависимые Ca^{2+} каналы L типа встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов.

4.3.3 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонного препарата амиодарона на модели хлоридбариевой аритмии

Модель хлоридбариевой аритмии как инструмент поиска лекарственных средств для лечения нарушений сердечного ритма достаточно часто используется с начала 70-х годов XX века [295]. К настоящему времени механизмы, за счёт которых бария хлорид инициирует развитие нарушений сердечного ритма, достаточно хорошо изучены. Показано, что ионы Ba^{2+} является классическими проникающими блокаторами K^+ каналов [263]. Эффект «внешней блокировки» связан со способностью ионов Ba^{2+} селективно связываться с K^+ каналами в области их проницаемой поры [263]. Самая узкая часть проницаемой поры, её «селективный фильтр», образована высококонсервативным мотивом TVGYG, связанным с основными карбонильными атомами кислорода и направленным к центральному просвету поры. Расчёты рентгеновской кристаллографии и молекулярной динамики выявили пять сайтов связывания ионов вдоль узкой поры, от самого внешнего сайта S0 до самого внутреннего сайта S4. Теми же методами показано, что ионы Ba^{2+} могут связываться с сайтами S4 и S2 и тем самым препятствуют выходу ионов K^+ в межклеточное пространство [171], что способствует нарушению процессов реполяризации / постдеполяризации кардиомиоцитов и инициирует развитие злокачественных нарушений сердечного ритма. Также следует отметить, что ионы Ba^{2+} , блокируя трансмембранные потенциалзависимые K^+ каналы, не влияют на трансмембранный ток ионов Na^+ [266]. Известно, что на данной экспериментальной модели наиболее эффективными являются антиаритмики III класса по классификации E.M. Vaughan Williams [6; 25, с.385-416].

Антиаритмическую эффективность соединения АЛМ-802 сравнивали с эталонным для данной модели антиаритмиком III класса по классификации E.M. Vaughan Williams амиодароном [25, с.388]. Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения

АЛМ-802 и амиодарона проводили на модели хлоридбариевой аритмии, как описано в подпункте 2.4.3, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 220-250г. Животные были рандомизированны на 3 группы: группа 1 – «контроль» (физраствор, в/в, n = 6); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 3 – «амиодарон» (10 мг/кг, в/в, n = 7). Характеристика групп и результаты исследований, представлены в таблице 4.6.

Таблица 4.6 – Влияние соединения АЛМ-802 и амиодарона на нарушения ритма сердца, вызываемые бария хлоридом у крыс.

Группа	Доза, мг/кг, в/в	n	Кол-во крыс с ФЖ и асистолией	p*
Контроль	- - -	6	6	- - -
АЛМ-802	2	6	1	0,0151
Амиодарон	10	7	5	0,4615

Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру); ФЖ – фибрилляция желудочков.

Как следует из полученных данных, в условиях настоящей модели соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) проявляет выраженную антиаритмическую активность и превосходит таковую для эталонного препарата III класса по классификации E.M. Vaughan Williams – амиодарона.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 потенциально обладает свойствами антиаритмических лекарственных средств относящихся к III классу антиаритмиков по классификации E.M. Vaughan Williams, т.е. проявляет способность блокировать трансмембранные потенциалзависимые K⁺-каналы, встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов.

4.3.4 Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели реперфузионной аритмии

Антиаритмическую эффективность соединения АЛМ-802 сравнивали с таковой для эталонных для этой модели антиаритмиков: IA класса по классификации E.M. Vaughan Williams – прокаинамидом и VI класса – верапамилем [25, с.395], а также рFOX-ингибиторами триметазидином и ранолазином. Сравнительное изучение антиаритмической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов проводили на модели реперфузионной аритмии, как описано в подпункте 2.4.4, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 220-250г. Животные были рандомизированны на 8 групп: группа 1 – «контроль для АЛМ-802» (физраствор, в/в, n = 10); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 13); группа 3 – «контроль для триметазидина, ранолазина и верапамила» (физраствор, в/в, n = 12); группа 4 – «триметазидин»,

(30 мг/кг, в/в, n = 6); группа 5 – «ранолазин», (10 мг/кг, в/в, n = 8); группа 6 – «верапамил» (1 мг/кг, в/в, n = 8); группа 7 – «контроль для прокаинамида» (физраствор, в/в, n = 6); группа 8 – «прокаинамид» (20 мг/кг, в/в, n = 6). Результаты исследований, представлены в таблице 4.7.

Таблица 4.7 – Влияние соединения АЛМ-802 и препаратов сравнения на жизнеугрожающие нарушения ритма сердца, вызываемые окклюзией / реперфузией коронарной артерии у крыс.

Группа	Доза, мг/кг, в/в	n	Кол-во крыс с ЖТ и/или ФЖ	p*
Контроль для АЛМ-802	---	10	10	---
АЛМ-802	2	13	2	<0,001
Контроль для триметазида, ранолазина и верапамила	---	12	12	---
Триметазидин	30	6	6	1
Ранолазин	10	8	2	0,0022
Верапамил	1	8	3	0,0108
Контроль для прокаинамида	---	6	6	---
Прокаинамид	20	6	1	0,0151
Примечание – * – по отношению к контролю (по Фишеру). ЖТ – желудочковая тахикардия; ФЖ – фибрилляция желудочков.				

Как следует из полученных данных, в условиях настоящей модели соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) обладает выраженной антиаритмической активностью сопоставимой с таковой для эталонных для этой модели антиаритмиков: IA класса по классификации E.M. Vaughan Williams – прокаинамидом и VI класса – верапамил, а также rFOX ингибитором ранолазином. Препарат сравнения из группы rFOX ингибиторов – триметазидин на этой модели оказался не эффективен. Показанная в настоящих экспериментах способность ранолазина, предотвращать фибрилляцию желудочков и желудочковую тахикардию, согласуется с сообщениями о его антиаритмических свойствах в условиях подобной модели (окклюзия/реперфузия коронарной артерии у крысы) [93].

Как было сказано выше (см. подпункт 3.2.3), на данной модели наиболее эффективными являются антиаритмики IA, IC и IV класса по классификации E.M. Vaughan Williams. Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 потенциально обладает свойствами антиаритмических лекарственных средств относящихся к IA, IC и IV классу антиаритмиков по классификации E.M. Vaughan Williams, т.е. проявляет способность блокировать как трансмембранные потенциалзависимые

быстрые Na⁺ каналы, так и медленные трансмембранные потенциалзависимые Ca²⁺ каналы L-типа встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов.

4.3.5 Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели субэндокардиальной ишемии, вызванной неселективным β_{1,2}-адреномиметиком изопротеренолом у крыс с интактным сосудистым руслом

Антиишемическую эффективность активность соединения АЛМ-802 сравнивали с таковой у рFOX-ингибиторов триметазида и ранолазина, а также с антиишемической активностью антагониста ионов Ca²⁺ – верапамила. Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов проводили на модели субэндокардиальной ишемии, как описано в подпункте 2.4.5, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 220-240г. Животные были рандомизированы на 5 групп: группа 1 – «контроль» (физраствор, в/в, n = 12); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 7); группа 3 – «триметазидин», (30 мг/кг, в/в, n = 8); группа 4 – «ранолазин», (10 мг/кг, в/в, n = 8); группа 5 – «верапамил» (1 мг/кг, в/в, n = 8). Результаты исследований, представлены в таблице 4.8.

Таблица 4.8 – Влияние соединения АЛМ-802 и препаратов сравнения на депрессию сегмента ST во II стандартном отведении ЭКГ, вызванную изопротеренолом (20 мкг/кг/мин в течение 5 мин, в/в) у крыс с интактным сосудистым руслом.

Группа	Доза, мг/кг, в/в	n	Депрессия сегмента ST через 5 минут инфузии изопротеренола, мв*	p [#]
Контроль	- - -	12	-0,16±0,02	- - -
АЛМ-802	2	7	-0,02±0,01	<0,001
Триметазидин	30	8	-0,07±0,02	0,019
Ранолазин	10	8	-0,09±0,02	0,022
Верапамил	1	8	-0,03±0,01	<0,001

Примечание – * – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; [#] – по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

Как следует из полученных данных, в условиях настоящей модели статистически значимую антиишемическую активность проявляет как соединение АЛМ-802, так и препараты сравнения. Вместе с тем депрессия сегмента ST у крыс получавших соединение АЛМ-802 в ~4 раза меньше чем у крыс получавших рFOX-ингибиторы, и как минимум соответствует таковой у препарата верапамила.

4.3.6 Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 на модели субэндокардиальной ишемии, вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом и селективным β_1 -адреномиметиком – добутамином у крыс с интактным сосудистым руслom

Как следует из результатов предыдущей серии экспериментов соединение АЛМ-802 на модели субэндокардиальной ишемии миокарда вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком – изопротеренолом как минимум не уступает по своей эффективности эталонному препарату верапамилу. Однако, изопротеренол, в силу своего механизма действия, стимулирует не только β_1 -адренорецепторы, встроенные в клеточную мембрану проводящих и сократительных кардиомиоцитов, но и β_2 -адренорецепторы, встроенные в клеточную мембрану гладкомышечных клеток сосудов, что снижает постнагрузку на миокард, за счёт дилатации сосудистого русла. Естественно, что снижение постнагрузки на миокард в определённой мере уменьшает интенсивность («жесткость») моделируемого патологического процесса. В силу чего представлялось интересным оценить антиишемическую активность соединения АЛМ-802 в более «жестких» условиях, моделируя субэндокардиальную ишемию миокарда при помощи селективного β_1 -адреномиметика – добутамина, который имеет низкое сродство к β_2 -адренорецепторам и тем самым практически не оказывает влияния на тонус сосудистой стенки.

Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 на моделях субэндокардиальной ишемии миокарда, как описано в подпунктах 2.4.5 и 2.4.6, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 250-300г. Животные были рандомизированы на 4 группы: группа 1 – «контроль изопротеренол» (физраствор, в/в, n = 14); группа 2 – «АЛМ-802 изопротеренол» (2 мг/кг, в/в, n = 6); группа 3 – «контроль добутамин» (физраствор, в/в, n = 9); группа 4 – «АЛМ-802 добутамин», (2 мг/кг, в/в, n = 9). Результаты исследований, представлены в таблице 4.9

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что оба β -адреномиметика через 5 минут после начала инфузии вызывают близкую по интенсивности субэндокардиальную ишемию (таблица 4.9). Исходя из этого можно заключить, что вазодилатация, вызываемая неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом, не оказывает значимого компенсаторного влияния на интенсивность его проишемического действия. Соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) введённое за две минуты до начала инфузии изопротеренола или добутамина предупреждает развитие субэндокардиальной ишемии, о чем свидетельствует значимо меньшая депрессию сегмента ST на ЭКГ (таблица 4.9). Таким образом, соединение

АЛМ-802 на обеих моделях субэндокардиальной ишемии в равной степени проявляет своё противоишемическое действие.

Таблица 4.9 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) на депрессию сегмента ST во II стандартном отведении ЭКГ, вызванную изопротеренолом (20 мкг/кг/мин в течение 5 мин, в/в) и добутамином (80 мкг/кг/мин в течение 5 мин, в/в), у крыс.

Группа	n	Депрессия сегмента ST через 5 минут инфузии, мВ*	p
Изопротеренол, контроль	14	-0,145±0,012	- - -
Изопротеренол, АЛМ-802	6	-0,023±0,019	0,0002[#]
Добутамин, контроль	9	-0,111±0,016	0,138 [×]
Добутамин, АЛМ-802	9	-0,028±0,016	0,84 [×] 0,0008[#]

Примечание – * – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; [×] – вероятность ошибки I рода при сравнении с соответствующей группой с инфузией изопротеренола; [#] – вероятность ошибки I рода при сравнении с контролем (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Ньюмену-Кейлсу).

4.3.7 Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов на модели субэндокардиальной ишемии, вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом у крыс с эндотелиальной дисфункцией

При изучении кардиопротективных эффектов фармакологических средств, как правило, используют здоровых животных, в том числе животных с интактным сосудистым руслом, на которых моделируют различные патологические состояния, например, инфаркт миокарда или реперфузионные аритмии. В то же время, в реальной жизни ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия и т.д., зачастую протекают на фоне изменённого сосудистого русла. Естественно, что оценка эффективности вновь синтезированных соединений на экспериментальных моделях, в значительной степени воспроизводящих патологические состояния, наблюдаемые в клинической практике, позволяет получить более объективную информацию об их истинной кардиопротективной активности. Исходя из этого, в следующей серии экспериментов мы оценили антиишемическую активность соединения АЛМ-802 и эталонных рFOX-ингибиторов триметазидина и ранолазина на модели субэндокардиальной ишемии, вызванной неселективным $\beta_{1,2}$ -адреномиметиком изопротеренолом у животных с эндотелиальной дисфункцией (ЭД).

В настоящее время ЭД, определяемую как нарушение структурно-функциональной организации сосудистого эндотелия, рассматривают как одно из ключевых звеньев патогенеза

таких хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы как атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет, метаболический синдром и облитерирующий эндартериит. Показано, что в нормальных физиологических условиях эндотелий выполняет важнейшую метаболическую функцию, участвуя в регуляции сосудистого тонуса, адгезии лейкоцитов, тромбоцитов, росте сосудов и т.д. [85,133]. Среди медиаторов, синтезируемых эндотелием, выделяют вазоконстрикторы (уротензин II, эндотелин I, ангиотензин II, тромбоксан A2 и простагландин H2) и вазодилататоры (эндотелиальный гиперполяризующий фактор, брадикинины, простагландин I2, оксид азота (NO)) [87, 125, 249]. Именно дисбаланс между вазодилатирующими и вазоконстрикторными каскадами, приводящий к сдвигу в сторону последнего, ответственен за формирование ЭД [181,204]. В основе подавления активности вазодилатирующего каскада лежит снижение уровня биологически активного NO, продуцируемого сосудистым эндотелием и/или снижение его биодоступности [85]. В подавлении активности NO ключевая роль принадлежит таким окислительным ферментным системам как NADPH-оксидаза, ксантинооксидаза, циклооксигеназа, липоксигеназа, миелопероксидаза, монооксигеназа, пероксидаза и цитохром P450 [98,149].

В контексте настоящей работы интересными представляются данные о вкладе СЖК в формирование ЭД. Эндотелиальная дисфункция, опосредованная СЖК, формируется за счёт нескольких механизмов, включающих в себя нарушение передачи сигналов инсулина и снижение выработки NO, инициацию окислительного стресса, активацию провоспалительных цитокинов и ренин-ангиотензиновой системы, а также апоптоз эндотелиальных клеток [129].

Эндотелиальную дисфункцию у крыс моделировали путём алиментарного избытка метионина, который в организме в процессе реакций трансаминирования и последующего метилирования метаболизируется до гомоцистеина, серосодержащей аминокислоты, высокая концентрация которой в плазме крови определяет патофизиологическое состояние – гипергомоцистеинемию. Известно, что гипергомоцистеинемия усиливает действие эндогенных конкурентных ингибиторов eNOS, а именно L-N-монометиларгинина (L-NMMA) и асимметричного диметиларгинина (ADMA), которые могут способствовать дисфункции эндотелия сосудов [166,194], стимулирует окисление холестерина ЛПНП и образование АФК [168]. Повышенный уровень холестерина и триглицеридов и снижение защитного уровня ЛПВП уменьшает активность и экспрессию eNOS и нарушает целостность эндотелия сосудов из-за окислительного стресса. Гиперхолестеринемия также стимулирует высвобождение эндотелинов, сосудосуживающих простаноидов, ангиотензина II, воспалительных цитокинов, ксантинооксидазы и, таким образом, снижает биодоступность NO [99].

Сравнительное изучение антиишемической активности соединения АЛМ-802 и эталонных препаратов проводили на модели субэндокардиальной ишемии, как описано в подпункте 2.4.5, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эндотелиальную дисфункцию у крыс воспроизводили, как описано в подпункте 2.4.9. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 200-350г (в активной фазе эксперимента). Животные были рандомизированы на 4 группы: группа 1 – «контроль» (физраствор, в/в, n = 8); группа 2 – «АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n = 8); группа 3 – «триметазидин», (30 мг/кг, в/в, n = 8); группа 4 – «ранолазин», (10 мг/кг, в/в, n = 5). Результаты исследований, представлены в таблице 4.10. Таблица 4.10 дополнена данными эксперимента описанного в подпункте 4.3.5, таблица 4.8, группа «контроль», здесь эта группа обозначена как «интактные».

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что ЭД резко снижает адаптационные механизмы, определяющие устойчивость сердечной мышцы к ишемии. Так если у животных с интактным сосудистым руслом изопротеренол, за счёт увеличения потребности миокарда в кислороде и энергетических субстратах инициировал приводил к депрессии сегмента ST на ЭКГ составляющую $0,16 \pm 0,02$ мВ, то в условиях подавления вазодилатирующего каскада патогномоничного для эндотелиальной дисфункции депрессия сегмента ST на ЭКГ составила $0,28 \pm 0,03$ мВ (таблица 4.10), что на 43% больше чем у интактных животных с сохранённой способностью сосудов к вазодилатации.

Таблица 4.10 – Влияние соединения АЛМ-802 и препаратов сравнения на депрессию сегмента ST во II стандартном отведении ЭКГ, вызванную изопротеренолом (20 мкг/кг/мин в течение 5 мин, в/в) у крыс с эндотелиальной дисфункцией.

Группа	Доза, мг/кг, в/в	n	Депрессия сегмента ST через 5 минут инфузии изопротеренола, мВ*	p
Интактные [§]	---	12	$-0,16 \pm 0,02$	---
Контроль	---	8	$-0,28 \pm 0,03$	<0,001[×]
АЛМ-802	2	8	$-0,06 \pm 0,02$	0,002[#]
Триметазидин	30	8	$-0,24 \pm 0,04$	>0,05[#]
Ранолазин	10	5	$-0,33 \pm 0,07$	>0,05[#]

Примечание – * – показаны средние арифметические и их стандартные ошибки; [#] – по отношению к контрольной группе (двухфакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Ньюмену-Кейлеу); [×] – по отношению к группе «интактные» (крысы с интактным сосудистым руслом); [§] – здесь приведены данные эксперимента описанного в пп. 4.3.4, таблица 4.8, группа «контроль».

Также как и в эксперименте на крысах интактным сосудистым руслом, описанным в подпункте 4.3.5, соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) проявляет выраженную антиишемическую активность и в условиях повреждённого сосудистого русла (таблица 4.10), где по сравнению с

контролем, препятствует депрессии сегмента ST на ЭКГ на $\approx 80\%$. Однако, иная картина наблюдается при анализе особенностей противоишемического действия р-FOX ингибиторов триметазида (30 мг/кг, в/в) и ранолазина (10 мг/кг, в/в), которые, в отличие от соединения АЛМ-802, в условиях эндотелиальной дисфункции не проявляют антиишемической активности (таблица 4.10).

Таким образом, результаты, полученные нами в этой серии экспериментов, свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802, в отличие от триметазида и ранолазина, проявляет антиишемическую активность как у животных с интактным, сосудистым руслом, так и в условиях ЭД.

4.4 Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802

4.4.1 Изучение электрофизиологических и рецепторных механизмов, лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802 в экспериментах *in vitro*

4.4.1.1 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на вызванные потенциалы действия.

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим лаборатории внутриклеточной сигнализации ФГБУН «Институт биофизики клетки Российской академии наук» (ИБК РАН), д.б.н., В.П. Зинченко [38].

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на вызванные потенциалы действия проводили, как описано в подпункте 2.2.2, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. В ходе эксперимента производились контрольные записи вызванных потенциалов действия (схема протокола стимуляции представлена на рисунке 4.2, фигура А), после чего через систему аппликации в экспериментальную камеру производилась добавка раствора Хэнкса, содержащего 69,8 μM АЛМ-802 (данная концентрация эквивалентна эффективной дозе соединения АЛМ-802 – 2 мг/кг, в/в, известной из экспериментов *in vivo*) и производилась повторная запись. Также были протестированы большие и меньшие концентрации.

На рисунке 4.2, фигура Б, показано, что при данных параметрах возбуждения наблюдается генерация пачек потенциалов действия, амплитуда которых постепенно уменьшается из-за

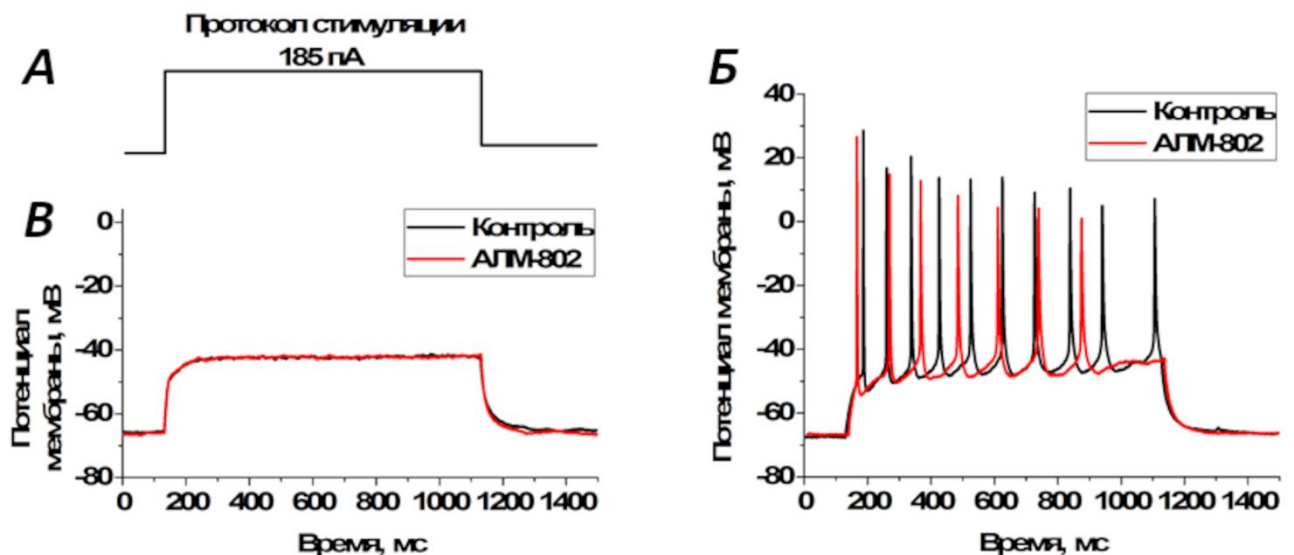


Рисунок 4.2 – Действие соединения АЛМ-802 на вызванные потенциалы действия [38]

Примечание – *А* – Протокол стимуляции током. *Б* – Генерация вызванных потенциалов действия в контроле (черная линия) и в присутствии 69,8 μM АЛМ-802 (красная линия). *В* – Ступенька потенциала мембраны (без генерации потенциалов действия, заингибированы Na^+ -каналы), возникающая за счет активации трансмембранных потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, в контроле (черная линия) и в присутствии 69,8 μM АЛМ-802 (красная линия).

потенциал-зависимой инактивации части трансмембранных потенциал-зависимых Na^+ каналов. Соединение АЛМ-802 вызывает уменьшение амплитуды и частоты потенциалов действия, что может говорить об ингибировании трансмембранных потенциал зависимых K^+ - и Na^+ -каналов [38].

Для оценки влияния соединения АЛМ-802 на трансмембранные потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы, были произведены аналогичные эксперименты в присутствии 100 нМ тетродотоксина во внеклеточном растворе. Когда заблокирована генерация потенциалов действия, величина ступеньки потенциала мембраны, вызванной токовой стимуляцией нейрона, помимо прочего зависит от активности трансмембранных потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, по этому, если соединение АЛМ-802 оказывает действие на их проводимость, значение потенциала мембраны во время стимуляции должно меняться. Эти изменения не были обнаружены ни при добавке 69,8 μM соединения АЛМ-802, ни при двух- и трёхкратном увеличении его концентрации (рисунок 4.2, фигура *В*).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 в условиях настоящего эксперимента инициирует инактивацию трансмембранных потенциал-зависимых ионных K^+ - и Na^+ -каналов и не влияет на активность трансмембранных потенциал-зависимых ионных Ca^{2+} -каналов.

4.4.1.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на трансмембранные K^+ - и Na^+ -токи.

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим лаборатории внутриклеточной сигнализации ФГБУН «Институт биофизики клетки Российской академии

наук» (ИБК РАН), д.б.н., В.П. Зинченко [38].

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на трансмембранные K^+ - и Na^+ -токи проводили как описано в подпункте 2.2.2, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. В эксперименте использовали молодую культуру нейроглиальных клеток возрастом 2-3 дня. На этой стадии развития у нейронов ещё не экспрессировано большое количество Na^+ - и K^+ -каналов и генерируемые в ответ на стимуляцию Na^+ - и K^+ - токи небольшие, что облегчает их анализ. Для измерения Na^+ - и K^+ -токов был использован протокол стимуляции, представленный на рисунке 4.3, фигура А.

Удерживаемый потенциал мембраны на 150 мс варьировал в пределах от -70 мВ до -100 мВ, что позволяло вывести все трансмембранные потенциалзависимые Na^+ - и K^+ - каналы из состояния инактивации. Затем, для активации трансмембранных потенциал-зависимых Na^+ - и K^+ -каналов, мембранный потенциал повышали до -30 мВ, после чего снижали до -70 мВ. Протокол повторялся каждые 5 секунд в течении 5 минут. На рисунке 4.3, фигура Б видно, что генерируемые в ответ на деполяризацию до -30 мВ Na^+ - и K^+ -токи уменьшались относительно

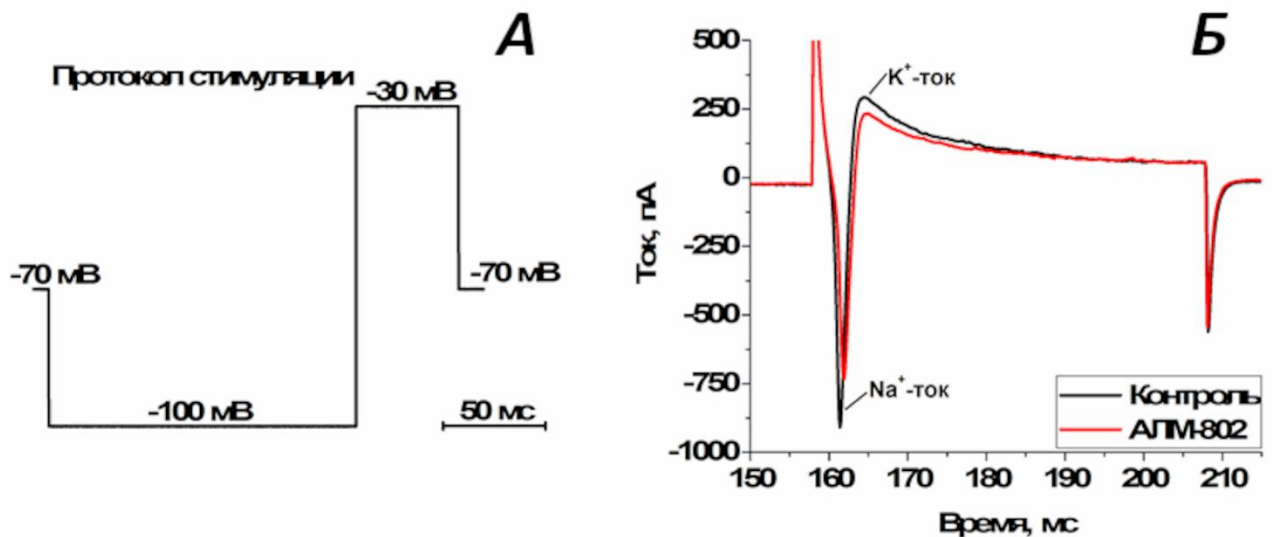


Рисунок 4.3 – Действие соединения АЛМ-802 на трансмембранные K^+ - и Na^+ -токи [38]

Примечание – А – Протокол стимуляции. Б – Генерация в ответ на стимуляцию Na^+ - и K^+ - токов в контроле (черная линия) и в присутствии 69,8 μ М АЛМ-802 (красная линия).

контроля в присутствии 69,8 μ М соединения АЛМ-802.

Далее была произведена серия экспериментов для количественной оценки зависимости Na^+ - и K^+ -токов от концентрации соединения АЛМ-802. Для исключения искажения значений токовых ответов взаимодействием Na^+ - и K^+ -токов, для каждого канала эксперименты производились отдельно. Для записи Na^+ -токов использовался внутривнутрипипеточный раствор, в котором все соли K^+ были заменены на соли Cs^+ с целью ингибирования K^+ токов. Для записи K^+ токов во внеклеточный раствор с целью ингибирования Na^+ -токов добавляли 100 нМ

тетродотоксина. Для стандартизации значений токов, результаты записи с каждой клетки делились на ёмкость данной клетки. Эксперимент с каждой концентрацией соединения АЛМ-802 был повторён не менее 3 раз. В результате были построены кривые зависимости концентрация-эффект для Na^+ - и K^+ -токов (рисунок 4.4, фигуры А и Б, соответственно). Кривые концентрация-эффект в полулогарифмическом масштабе, по которым определяли концентрации полумаксимального ингибирования соединения АЛМ-802 для Na^+ - и K^+ -токов, представлены на фигуре В рисунка 4.4, чёрная и красная линия на графике, соответственно. Для Na^+ -каналов концентрация полумаксимального ингибирования $\text{IC}_{50} = 94 \pm 4 \mu\text{M}$, а для K^+ -каналов $\text{IC}_{50} = 67 \pm 3 \mu\text{M}$. Как следует из полученных данных, соединение АЛМ-802 блокирует трансмембранные потенциалзависимые ионные Na^+ - и K^+ -каналы. Так как IC_{50} для Na^+ -каналов значительно больше, чем для K^+ -каналов ($94 \pm 4 \mu\text{M}$ и $67 \pm 3 \mu\text{M}$, соответственно), то можно полагать, что соединение АЛМ-802 имеет большее сродство к трансмембранным потенциал-зависимым K^+ -каналам.

Таким образом, результаты настоящего эксперимента свидетельствуют о том, что антиаритмическая активность соединения АЛМ-802 во многом может быть связана с его способностью блокировать трансмембранные потенциалзависимые ионные Na^+ - и в большей степени ионные K^+ -каналы, а учитывая ранее данные, полученные на скрининговых моделях аритмий, можно говорить, о том что соединение АЛМ-802 сочетает в себе свойства антиаритмических лекарственных средства IA или IC и III классов по классификации Vaughan-Williams.

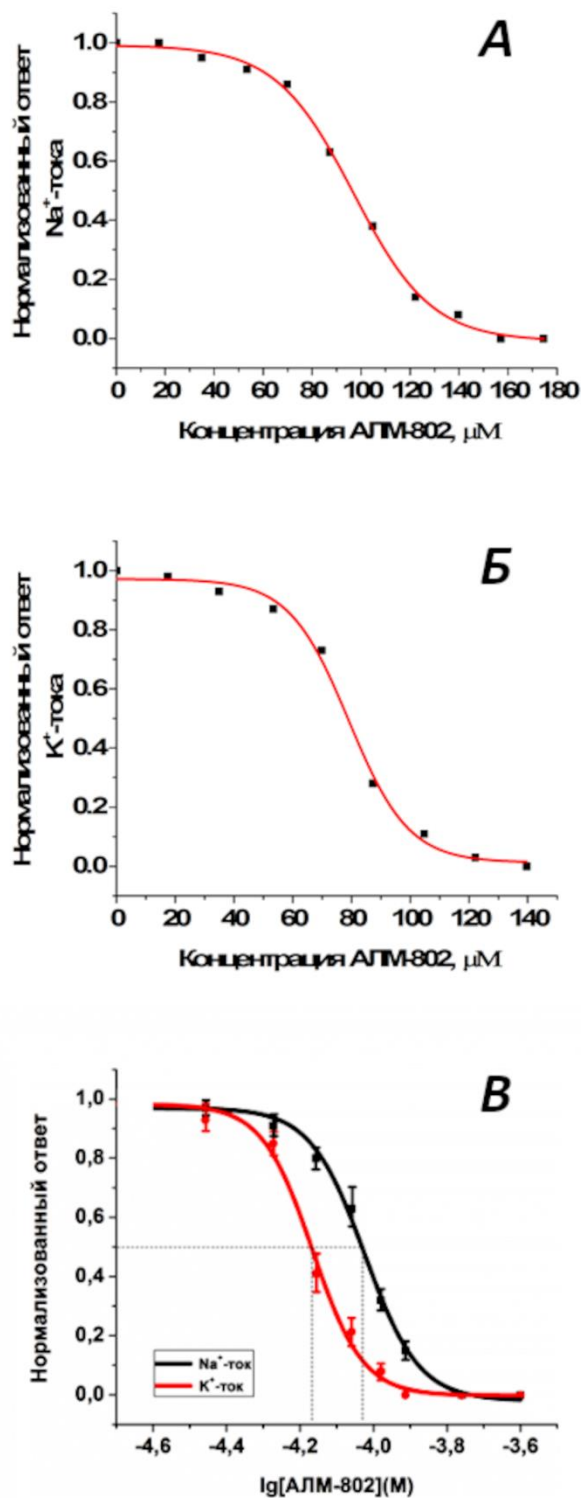


Рисунок 4.4 – Ингибирование соединением АЛМ-802 трансмембранных Na^+ -токов и K^+ -токов (кривые концентрация - эффект, пояснения в тексте) [38]

4.4.1.3 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вызванное деполяризацией.

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим лаборатории внутриклеточной сигнализации ФГБУН «Институт биофизики клетки Российской академии наук» (ИБК РАН), д.б.н., В.П. Зинченко.

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вызванное деполяризацией проводили, как описано в подпункте 2.2.3, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же.

Известно, что интенсивная и постоянная деполяризация нейронов переводит их в гипервозбуждённое состояние, которое характеризуется повышением внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вызванным, как притоком ионов Ca^{2+} в клетку, как через медленные трансмембранные потенциалзависимые ионные Ca^{2+} каналы (LTCCs), так и за счёт выброса ионов Ca^{2+} из СПР, в результате чего происходит переключение нейронов в режим пачечной активности. При флуоресцентной микроскопии (двуволновой зонд Fura-2, краситель эфир Fura-2AM) показано, что добавление в среду 35 мМ KCl проводит к сильной деполяризации всех клеток, при этом в их цитозоле повышается концентрация ионов Ca^{2+} (рисунок 4.5). Соединение АЛМ-802 (69,8 μM) в существенной мере препятствует увеличению амплитуды кальциевого ответа, вызванного добавлением в среду KCl (рисунок 4.5).

Как следует из полученных данных, соединение АЛМ-802 во время деполяризации эффективно препятствует повышению концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле нейронов. Механизм этого эффекта соединения АЛМ-802 был не ясен и требовал дальнейшего изучения. К тому же, было показано, что соединение АЛМ-802 не влияет на активность LTCCs (см подпункт 4.4.1.1). Отсюда можно было предположить, что наблюдаемое уменьшение кальциевого ответа при деполяризации мембраны обусловлено ингибированием соединением АЛМ-802 выброса ионов Ca^{2+} из цистерн эндоплазматического ретикулума.

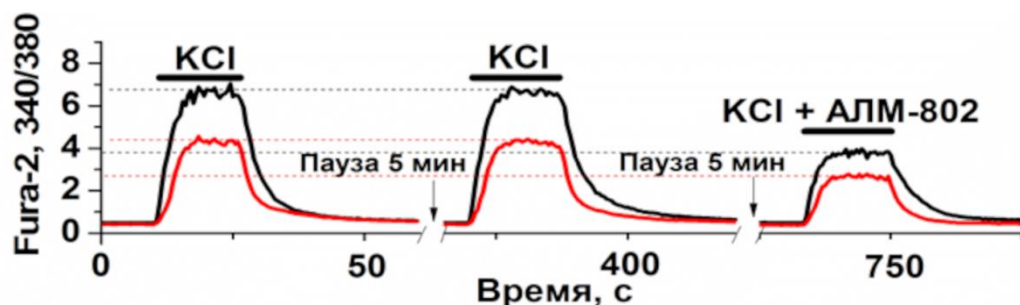


Рисунок 4.5 – Влияние АЛМ-802 на повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} , вызванное деполяризацией 35 мМ KCl в быстро (черная линия) и медленно (красная линия) отвечающих нейронах

Примечание – Пример записей ответа быстро отвечающего (черная линия) и медленно отвечающего (красная линия) нейрона на добавку 35 мМ KCl. В контроле при повторных добавках с паузой в 5 минут амплитуда Ca^{2+} ответа не меняется. Третья добавка KCl в присутствии 69,8 μM АЛМ-802. Показано заметное снижение амплитуды Ca^{2+} -ответа.

4.4.1.4 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на рианодиновые рецепторы.

Хорошо известно, что во время деполяризации кардиомиоцитов из цистерн СПР происходит выброс в цитозоль ионов Ca^{2+} , обеспечивающих инотропный ответ клетки. Одним из ключевых игроков в этом процессе являются рианодиновые рецепторы (RyRs), которые наряду с инозитолтрифосфатными рецепторами (IP3R) встроены в мембрану СПР и регулируют выброс ионов Ca^{2+} [271]. Своё название рианодиновые рецепторы получили в силу того, что «обладают способностью связывать рианодин – экстракт растения *Ryania speciosa*, используемого коренными народами Южной и Центральной Америки для изготовления дротиков, чтобы парализовать добычу. Рианодин блокирует каналы RyR1, находящиеся в открытом состоянии, и тем самым приводит к неконтролируемому высвобождению ионов Ca^{2+} из СПР гладкомышечных клеток и последующей тетании скелетной мускулатуры» [220]. RyR2, наряду с IP3R представляют собой самые крупные из известных в настоящее время ионных каналов [330]. Их молекулярная масса составляет $\approx 2,2$ МДа и $\approx 1,2$ МДа, соответственно. Канал RyR2 состоит из большого N-концевого цитозольного домена, на долю которого приходится 90% его массы, а остальные 10% составляют трансмембранный домен, содержащий пору канала [341].

Известно, что сокращение кардиомиоцитов обусловлено скоординированным высвобождением ионов Ca^{2+} из цистерн СПР, регулируется экспрессирующимися только в кардиомиоцитах RyR2 [236]. При низком цитозольном содержании ионов Ca^{2+} (≈ 100 -200 нМ), RyR2-каналы закрыты и открываются только с увеличением их концентрации до ≈ 10 мкМ [66]. В нормальных физиологических условиях открытие RyR2 и высвобождение ионов Ca^{2+} из цистерн СПР происходит в ответ на поступление в цитозоль кардиомиоцитов «затравочной порции» ионов Ca^{2+} через LTCCs. Ионы Ca^{2+} , высвобождаемые в цитозоль через RyR2 каналы, могут затем дополнительно стимулировать другие RyR2 каналы посредством механизма, называемого «индуцированное Ca^{2+} высвобождение Ca^{2+} » (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release, CICR) [109], поскольку высвобождающиеся ионы Ca^{2+} тут же связывается с сайтом активации RyR2 [62].

Во время диастолы расслабление кардиомиоцитов наступает в следствие падения концентрации Ca^{2+} в цитоплазме, которое наступает в основном за счёт поглощения ионов Ca^{2+} СПР посредством Ca^{2+} -АТФазы СПР (SERCA) и выведения из клетки ионов Ca^{2+} через $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ обменник ($3\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ обменный белок или NCX), активируемый градиентом концентрации ионов Na^+ и Ca^{2+} . Другие системы, такие как кальциевый насос плазматической мембраны (plasma membrane calcium ATPase, PMCA) и митохондриальный Ca^{2+} -унипортер (MCU), играют меньшую роль в удалении ионов Ca^{2+} из цитозоля кардиомиоцитов [61]. Рассматривая RyR2 важно учитывать, что даже в нормальных физиологических условиях во время диастолы незначительное количество ионов Ca^{2+} выходит за пределы СПР через RyR2, при этом, в таких

условиях, их преждевременное открытие маловероятно ввиду низкой концентрации Ca^{2+} , создаваемой таким током. Однако в условиях патологии диастолическая утечка ионов Ca^{2+} значительно возрастает и играет одну из ключевых ролей в формировании ХСН и инициации нарушений сердечного ритма [61,304].

Показано, что хроническая стресс-обусловленная диастолическая утечка ионов Ca^{2+} из СПР через RyR2 каналы истощает запасы ионов Ca^{2+} в цистернах СПР, что, в свою очередь, снижает сократительную способность миокарда и тем самым способствует прогрессированию ХСН [222]. Хроническая массивная утечка ионов Ca^{2+} также гасит эффект диастолического SERCA2a - обусловленного перемещение ионов Ca^{2+} из цитозоля кардиомиоцитов в цистерны СПР [219]. Полагают, что в основе диастолической утечки ионов Ca^{2+} из СПР лежит избыточное фосфорилирование протеинкиназой А (PKA) RyR2 по Ser2809, приводящее к дезактивации стабилизирующего канал кальстабина 2 (FKBP12.6) [327]. Кальстабины, в частности кальстабин 2, представляют собой субъединицы канала RyR , которые стабилизируют его закрытое состояние и тормозят утечку ионов Ca^{2+} во время диастолы [71]. Также показано, что при ХСН истощение фосфатаз, в частности фосфодиэстеразы 4D [192] способствует окислению и нитрозилированию рианодиновых каналов, что влечёт за собой изменение конформации RyR2 , приводящей к патологической массивной диастолической утечке ионов Ca^{2+} [283].

Патологическая диастолическая утечка Ca^{2+} из СПР через RyR2 также является основной причиной, как непосредственно, так и опосредованно, вызывающей нарушения сердечного ритма. Показано, что такая диастолическая утечка способствует возникновению деполяризирующего перетока Na^+ через $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ обменник (NCX), что является триггером последующей, отсроченной, деполяризации (DADs) клеточной мембраны [334]. При этом возможно развитие порочного круга, поскольку инициируемые RyR2 нарушения ритма, например фибрилляция предсердий способствуют увеличению экспрессии NCX [276]. Помимо этого, имеются данные о том, что аритмогенные эффекты RyR2 могут быть связаны подавлением активности кальстабина 2. Так например показано, что у мышей нокаутных по кальстабину 2 резко возрастает риск развития фибрилляция предсердий [196].

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на рианодиновые рецепторы проводили на изолированных полосках миокарда правого предсердия, полученных от нелинейных белых крыс-самцов массой 200-250г, как описано в подпункте 2.2.4, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. В экспериментах в качестве агониста RyRs был использован кофеин [202,225,343], который является одним из трёх известных эталонных агонистов (ионы Ca^{2+} , АТФ и кофеин) этих рецепторных ионных каналов [330,343].

На первом этапе было выполнено титрование концентрации кофеина с целью выявления минимальной концентрации кофеина, вызывающей максимальную силу сокращения полоски

миокарда, которая определялась показаниями изометрического датчика силы (В). В результате, в серии из 6 проб, было установлено, что агонист RyRs кофеин, в концентрации 5×10^{-5} М вызывает более чем двукратное увеличение силы сокращений, развиваемой полоской (см. таблица 4.11 и рисунок 4.6, синий график).

На втором этапе, в следующей серии из 6 проб, перед внесением кофеина (5×10^{-5} М), в экспозиционную камеру с полоской правого предсердия крысы добавляли 1×10^{-5} М соединения АЛМ-802 (см. таблица 4.11 и рисунок 4.6, красный график).

Таблица 4.11 – Влияние соединения АЛМ-802 (10^{-5} М) на изменение силы сокращений (В) полоски миокарда правого предсердия крысы, вызываемой кофеином (5×10^{-5} М) (n=6).

Условия опыта	Сила сокращений полоски миокарда, В	p*
Исходный уровень	0,117±0,018	---
Кофеин	0,239±0,039	0,0006
Исходный уровень	0,132±0,040	---
АЛМ-802	0,049±0,012	0,0160
АЛМ-802 + Кофеин	0,024±0,006	0,0050

Примечание – Показаны средние арифметические и их стандартные ошибки. * – по отношению к соответствующему исходному уровню (дисперсионный анализ повторных измерений с дальнейшей обработкой по Дункану).

Как следует из полученных данных, соединение АЛМ-802 в существенной мере уменьшает силу сокращений изолированной полоски миокарда ($p < 0,05$) и полностью блокирует положительный инотропный ответ полоски на кофеин (таблица 4.11 и красный график на рисунке 4.6). Этот эффект, в сочетании с данными, полученными при флуоресцентной микроскопии (см. пп. 4.4.1.3) позволяет заключить, что соединению АЛМ-802 присущи свойства антагониста RyRs. К тому же, подобное заключение хорошо согласуется с результатами модельных экспериментов воспроизводящих ХСН (см. ниже, пп. 4.4.2.3), из которых следует, что на фоне курсовой терапии соединением АЛМ-802 (предположительно антагонист RyR2) имеет место феномен *up-regulation* и происходит восстановление экспрессии генов RyR2.

В целом говоря о результатах, полученных в экспериментах *in vitro* при изучении механизмов лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 следует отметить, что эти механизмы носят комплексный характер и как минимум включают в себя его способность блокировать трансмембранные потенциалзависимые ионные Na^{+} - и K^{+} -каналы, а также RyR2.

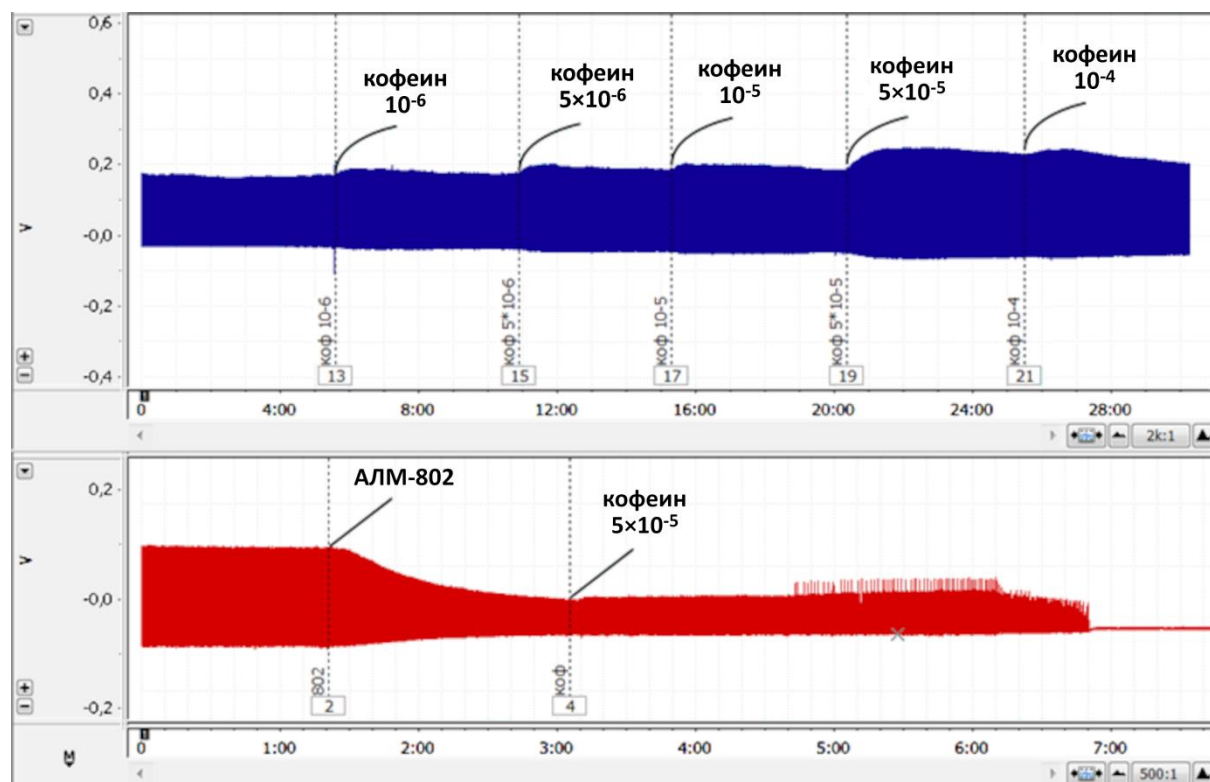


Рисунок 4.6 – Подавление соединением АЛМ-802 (10^{-5} М) положительного инотропного ответа изолированной полоски миокарда, вызванного агонистом RyRs кофеином (5×10^{-5} М)

Примечание – Примеры записи. Титрование концентрации кофеина (синий график) и подавление соединением АЛМ-802 инотропного действия кофеина (красный график). Ось абсцисс – время в минутах, ось ординат – показания изометрического датчика силы в вольтах.

4.4.2 Изучение кардиопротективных эффектов соединения АЛМ-802 в экспериментах *in vivo*

4.4.2.1 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на деполяризацию предсердий и желудочков сердца в острейшую фазу инфаркта миокарда.

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим отделом сравнительной кардиологии ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», ст.н.с, к.б.н., Смирновой С.Л.

Острую ишемию миокарда у крыс, воспроизводили, как описано в подпункте 2.4.7. Электрофизиологические исследования и статистическую обработку результатов проводили, как описано в подпункте 2.3.7. Исследование проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200г. Животные были рандомизированны на 3 группы: группа 1 – «ЛО (ложнооперированные)» (физраствор, в/в, n=6); группа 2 – «ОИМ (острый инфаркт миокарда)» (физраствор, в/в, n=6); группа 3 – «ОИМ + АЛМ-802» (2 мг/кг, в/в, n=6).

У ЛО животных волна возбуждения по эпикарду от области синоатриального узла (расположенного около верхней полой вены) распространяется на правое предсердие, по межпредсердной перегородке – на левое предсердие. На дорсальной стороне левого ушка заканчивается деполяризация предсердий (рисунок 4.7, А). Общая длительность деполяризации эпикарда предсердий составляет $10,8 \pm 1,6$ мс.

На эпикарде предсердий крыс с ОИМ в первые минуты острой ишемии миокарда наблюдается равномерное распространение волны возбуждения, однако общая длительность деполяризации эпикарда предсердий динамически уменьшается и к 15-20-ой минуте после перевязки коронарного сосуда составляет $7,1 \pm 1,1$ мс ($p < 0,05$ по сравнению с ЛО крысами). Начиная с 10-ой минуты ишемии на эпикарде обоих предсердий начинают формироваться дополнительные зоны ранней деполяризации (рисунок 4.7, Б).

У крыс с ОИМ + АЛМ-802 на эпикарде предсердий наблюдается равномерное распространение волны возбуждения. Волна деполяризации по эпикарду от области синоатриального узла распространяется на правое предсердие, по межпредсердной перегородке – на левое предсердие, где на дорсальной стороне ушка заканчивается деполяризация предсердий. При этом, в отличие от животных с ОИМ, на субэпикарде предсердий и в области устьев лёгочных вен, в частности, формирования дополнительных очагов возбуждения не происходит (рисунок 4.7, В).

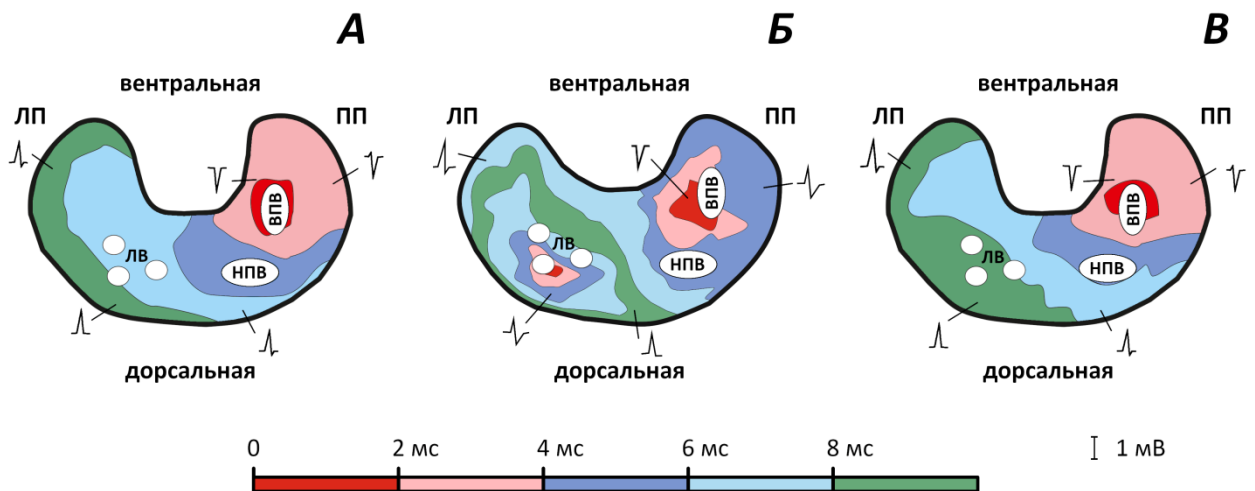


Рисунок 4.7 – Хронотопографическая карта последовательностей деполяризации эпикарда предсердий у ложнооперированных крыс (А), крыс с острым инфарктом миокарда (Б) и у крыс с острым инфарктом миокарда на фоне соединения АЛМ-802 (В).

Общая продолжительность деполяризации стенок левого желудочка сердца у ЛО крыс составила $8,75 \pm 3,20$ мс, основания левого желудочка сердца – $4,5 \pm 2,10$ мс, верхушки – $6,75 \pm 1,73$ мс, медианной части свободной стенки – $6,75 \pm 1,69$ мс.

Общая продолжительность деполяризации стенок левого желудочка сердца с 13-15-ой минуты после перевязки коронарного сосуда начинает укорачиваться и к 20-ой минуте составляет $6,31 \pm 2,42$ мс ($p < 0,05$ по сравнению с ЛО животными). К этому времени в основании левого желудочка сердца и медианной части свободной стенки регистрируются периодически возникающие очаги аномальной деполяризации. Параллельно с этим отмечается увеличение ЧСС и возникновение обратимых фибрилляций желудочков.

Через 5 минут после перевязки коронарной артерии, ЧСС у животных достоверно снижается, длительность комплекса QRS достоверно увеличивается с 0,005 с до 0,037 с, а длительность интервала QT уменьшается от 0,2 с до 0,12 с, продолжительность деполяризации стенок левого желудочка увеличивается достоверно до $19,0 \pm 3,24$ мс, при этом длительность деполяризации основания левого желудочка составляет $11,75 \pm 2,11$ мс, медианной части (на уровне основания папиллярных мышц) – $18,75 \pm 3,76$ мс, верхушки – $5,5 \pm 1,21$ мс ($p < 0,05$). Длительность деполяризации субэпикарда левого желудочка после перевязки коронарной артерии увеличивается с $8,0 \pm 2,45$ мс, в исходном состоянии, до $16,3 \pm 3,15$ мс. В процессе деполяризации левого желудочка сердца у животных с острой ишемией миокарда на фоне соединения АЛМ-802 выявлено сохранение местоположения областей ранней деполяризации – в области оснований папиллярных мышц в средней части свободной стенки левого желудочка и субэндокарда его свободной стенки, и изменение последовательности деполяризации левого желудочка на конечных фазах деполяризации – смещение областей поздней деполяризации от основания желудочка (области, непосредственно примыкающей к области перевязки сосуда), на среднюю часть желудочка, примыкающую к межжелудочковой перегородке на вентральной и дорсальной стороне.

К 10-ой минуте после перевязки нисходящей артерии и введения соединения АЛМ-802 у животных наблюдается снижение ЧСС, к 30 минуте после введения препарата происходит частичное восстановление ЧСС.

Таким образом, в условиях эксперимента соединение АЛМ-802 проявляет антиаритмическую активность, которая обусловлена его способностью предотвращать формирование на субэпикарде предсердий в области лакун легочных вен очага ранней деполяризации, в стенках левого желудочка сердца областей аномальной деполяризации, увеличивать продолжительность деполяризации левого желудочка и, как следствие этого, препятствовать возникновению угрожающих жизни эпизодов фибрилляции желудочков сердца, что может быть связано со способностью соединения блокировать трансмембранные потенциалзависимые ионные Na^+ - и K^+ -каналы, и RyR2 .

4.4.2.2 Изучение влияния соединения АЛМ-802 на инотропную функцию сердца на трансляционной модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности

Изучение влияния соединения АЛМ-802 на инотропную функцию сердца проводили на разработанной нами трансляционной модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности (патент № 2744681 С1 РФ), которую воспроизводили, как описано в подпункте 2.4.8. Инотропную функцию сердца оценивали методом эхокардиографии, как описано в подпункте 2.3.6, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200г (в начале эксперимента). Животные были рандомизированы на 6 групп: группа 1 – «Ложнооперированные для группы 5» (n = 8); группа 2 – «Ложнооперированные для группы 6» (n = 11); группа 3 – «Контроль ХСН для группы 5» (n = 13); группа 4 – «Контроль ХСН для группы 6» (n = 6); группа 5 – «АЛМ-802 профилактика развития ХСН» (n = 12); группа 6 – «АЛМ-802 лечение сформировавшейся ХСН» (n = 7). Исследуемое соединение АЛМ-802 (в/в, 2 мг/кг, в 0,2-0,3 мл апиrogenной воды для инъекций) в группе 5, а в контрольных сериях (группы №№ 1 и 3) апиrogenную воду для инъекций вводили с первого дня от момента перевязки коронарной артерии, ежедневно в течение 15 дней. В группе 6 АЛМ-802 (в/в, 2 мг/кг, в 0,2-0,3 мл апиrogenной воды для инъекций), а в контрольных сериях (группы №№ 2 и 4) апиrogenную воду для инъекций вводили с 90 дня от момента перевязки коронарной артерии, ежедневно в течение 28 дней. В группах №№ 1, 3 и 5 оценку эхокардиографических показателей проводили за сутки до воспроизведения инфаркта миокарда, на 2-ые, 15-ые, 60-ые и 90-ые сутки после его воспроизведения. В группах №№ 2, 4 и 6 оценку эхокардиографических показателей проводили за сутки до воспроизведения инфаркта миокарда, на 2-ые, 60-ые, 90-ые и 118-ые сутки после его воспроизведения. Результаты экспериментов по изучению возможности использования соединения АЛМ-802 для профилактики развития ХСН представлены в таблице 4.12.

Как следует из полученных данных, профилактическая экспериментальная терапия, проводившаяся на протяжении 14 дней, не оказала существенного влияния на эхокардиографические показатели, отражающие функциональное состояние сердца – они статистически значимо не отличались от таковых у контрольных животных и свидетельствовали о развитии ХСН. Отмечена лишь незначительная положительная тенденция (таблица 4.12).

Можно предположить, что отсутствие эффекта связано с незначительной продолжительностью курса терапии (14 дней), поскольку более длительный курс лечения (28 дней) сформировавшейся ХСН соединением АЛМ-802 в той же дозе оказался эффективным. Результаты экспериментов по изучению возможности использования соединения АЛМ-802 для лечения ХСН представлены в таблице 4.13.

Таблица 4.12 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг/сутки в/б в течение 14 дней, начало введения сразу после окклюзии коронарной артерии) на эхокардиографические показатели деятельности сердца у крыс через 90 дней после перевязки коронарной артерии.

Эхокардиографические показатели	Группа		
	ложнооперированные для группы 5	контроль ХСН для группы 5	АЛМ-802 профилактика развития ХСН (группа 5)
Конечно-систолический размер, мм	1,97±0,13 p=0,0001	3,55±0,17	3,42±0,20 p=0,623
Конечно-диастолический размер, мм	4,05±0,22 p=0,009	4,93±0,17	4,88±0,18 p=0,847
Фракция укорочения, %	51,5±1,4 p=0,0001	28,2±1,4	30,3±2,0 p=0,401
Фракция выброса, %	87,5±1,0 p=0,0001	60,7±2,1	63,4±2,8 p=0,420

Примечание – Указаны средние арифметические и их стандартные ошибки; p – указано по отношению к «контролю ХСН для группы 5» (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

Таблица 4.13 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг/сутки в/б, в течение 28 дней, начало введения через 90 дней после окклюзии коронарной артерии) на динамику изменения (с 90 по 118 сутки) эхокардиографических показателей деятельности сердца у крыс в условиях сформировавшейся хронической сердечной недостаточности после перевязки коронарной артерии.

Эхокардиографические показатели	Группа		
	ложнооперированные для группы 6	контроль ХСН для группы 6	АЛМ-802 лечение сформировавшейся ХСН (группа 6)
КСР, мм	+0,03±0,06 p=0,809	+0,09±0,25	-0,23±0,11 p=0,267
КДР, мм	-0,04±0,07 p=0,995	+0,04±0,36	-0,06±0,14 p=0,979
ФУ, %	-1,4±0,9 p=0,814	-1,9±1,9	+4,7±1,8 p=0,041
ФВ, %	-1,3±0,9 p=0,691	-2,7±3,0	+6,3±2,8 p=0,038

Примечание – Указаны средние арифметические и их стандартные ошибки; p – указано по отношению к «контролю ХСН для группы 6» (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

Как следует из полученных результатов эхокардиографии, у животных с экспериментальным передним трансмуральным инфарктом миокарда к 90-му дню наблюдения развивается ХСН. Так, у них, по сравнению с ложнооперированными животными, более чем на 70% увеличился КСР левого желудочка (соответственно 4,35 ± 0,36мм и 2,42 ± 0,08мм;

$p=0,0002$), а КДР – на 30% (соответственно $5,78 \pm 0,37$ мм и $4,46 \pm 0,07$ мм; $p=0,0002$). Увеличение полости левого желудочка происходило на фоне снижения (более чем на 30%) его сократительной способности (соответственно $55,5 \pm 3,2\%$ и $82,7 \pm 0,9\%$; $p<0,0001$).

У контрольных животных за период с 90 по 118 день отмечено дальнейшее прогрессирование ХСН. Так, например, КСР увеличился ещё на 0,09 мм, а ФВ снизилась почти на 3% (таблица 4.13). В то же время, у животных, получавших соединение АЛМ-802, наблюдалась обратная динамика. В этой группе была отмечена отчётливая тенденция к уменьшению размеров полости левого желудочка, например, у них, в отличие от контрольных животных, КСР не увеличился, а уменьшился на 0,23 мм. Ещё у животных, за время терапии, ФВ статистически значимо ($p=0,038$) увеличилась.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что курсовая экспериментальная терапия соединением АЛМ-802, начатая в условиях сформировавшейся постинфарктной сердечной недостаточности способствует обратному ремоделированию левого желудочка сердца, что наряду с статистически значимым увеличением его инотропной функции позволяет говорить о том, что на фоне терапии соединением АЛМ-802 снижается тяжесть течения ХСН. Можно полагать, что такой эффект соединения АЛМ-802 связан с его способностью оптимизировать функциональную активность RyR2.

4.4.2.3 Изучение молекулярных механизмов лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802.

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим лабораторией хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», д.б.н., Кожевниковой Л.М. [15].

Изучение молекулярных механизмов лежащих в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802 проводили на разработанной нами трансляционной модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности (патент № 2744681 С1 РФ), которую воспроизводили, как описано в подпункте 2.4.8. Молекулярные исследования проводили методом ПЦР в реальном времени, как описано в подпункте 2.2.1, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200г (в начале эксперимента). Животные были рандомизированы на 3 группы: группа 1 – «ложнооперированные» (апирогенная вода для инъекций, в/б, $n = 10$); группа 2 – «контроль ХСН» (апирогенная вода для инъекций, в/б, $n = 10$); группа 3 – «ХСН + соединение АЛМ-802» (2 мг/кг, в/б, $n = 10$). Соединение АЛМ-802 в опытной группе, а в контрольных апирогенную воду для инъекций вводили ежедневно, в течение 28-и дней, начиная

с 91-го дня от момента воспроизведения переднего трансмурального инфаркта миокарда, объем вводимой жидкости всегда составлял 1 мл на 1 кг массы животного.

На следующий день после последней инъекции животных декапитировали и извлекали сердца для ПЦР исследований, в которых определяли уровень экспрессии мРНК генов для β_1 - и β_2 -адренорецепторов (β_1 AR, β_2 AR), рианодиновых рецепторов 2 типа (RyR2), инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов 2 типа (IP3R2) и регуляторного белок Eras1. Результаты экспериментов отображены на рисунке 4.8.

Как следует из полученных данных, у животных с ХСН по сравнению с ложнооперированными в миокарде левого желудочка происходит статистически значимое ($p < 0,05$) снижение уровня экспрессии мРНК генов для β_1 - и β_2 -адренорецепторов, тогда как на фоне курсовой терапии соединением АЛМ-802 уровень экспрессии этих рецепторов восстанавливается, различие статистически значимо – $p = 0,00001$ и $p = 0,01$, соответственно (рисунок 4.8). У контрольных животных по сравнению с ложнооперированными в миокарде левого желудочка также происходит статистически значимое ($p < 0,05$) снижение экспрессии мРНК генов для RyR2, которая восстанавливается на фоне терапии соединением АЛМ-802 – $p = 0,008$ (рисунок 4.8). Также на фоне терапии соединением АЛМ-802 отмечено достоверное ($p = 0,0004$) снижение гиперэкспрессии мРНК генов для IP3R2; и отчетливая тенденция к восстановлению уровня экспрессии мРНК генов для регуляторного белка Eras1. (рисунок 4.8).

Полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что курсовая терапия соединением АЛМ-802 животных со сформировавшейся ХСН приводит к восстановлению на мембране кардиомиоцитов пулов β_1 - и β_2 -ARs.

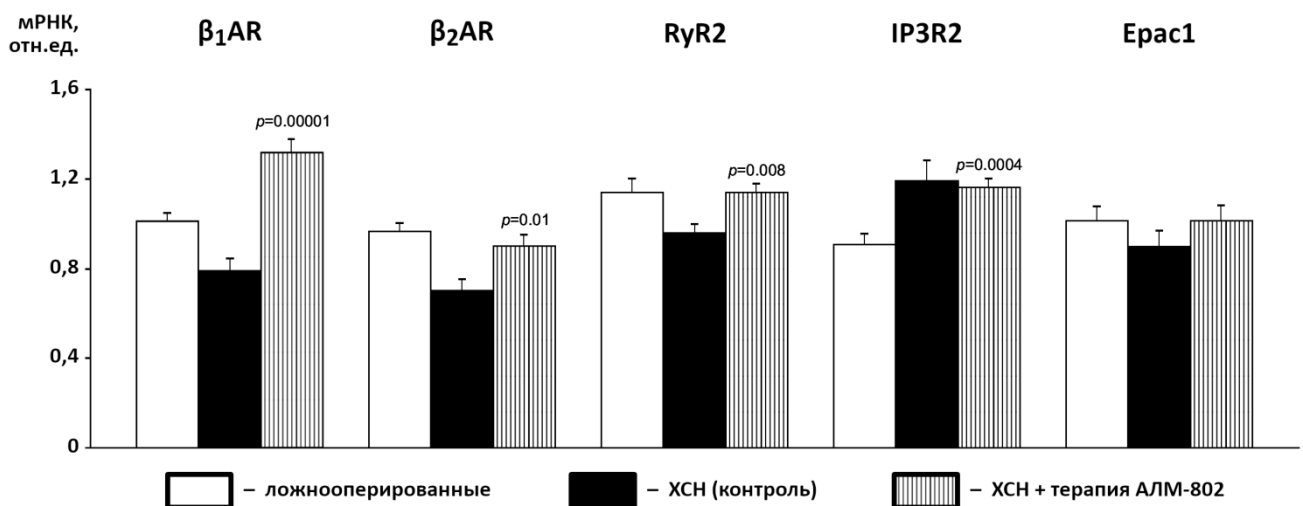


Рисунок 4.8 – Влияние АЛМ-802 на экспрессию мРНК генов β_1 AR, β_2 AR, RyR2, IP3R2, Eras1 в миокарде левого желудочка крыс со сформировавшийся ХСН [15]

Примечание – p – статистически значимые отличия от контрольной группы ХСН (по Стьюденту).

Известно, что для ХСН характерен феномен даун-регуляции (down-regulation) β -адренорецепторов [215]. Симпатическая регуляция сердца, опосредованная сигнальным каскадом β -AR (главным образом β_1 -AR), контролирует сократительную способность миокарда, его расслабление и сердечный выброс. На начальных стадиях ХСН симпатическая активация, в краткосрочной перспективе, является благоприятным компенсаторным механизмом, поскольку поддерживает инотропную функцию сердца на относительно удовлетворительном уровне. Однако устойчивая долговременная симпатическая активация при ХСН приводит к патологическому ремоделированию β_1 - и β_2 -ARs, проявляющемуся в их десенситизации и снижении количества β -ARs (в основном β_1 -AR) на клеточной мембране, т.е. инициирует феномен down-regulation β -ARs [73,254]. Десенситизация и снижение количества β -ARs уменьшает адренергическую сигнализацию и традиционно считается пагубной у пациентов с ХСН [72,213]. Такая постановка вопроса связана с тем, что в условиях неадекватной симпатической регуляции нарушается функционирование таких критических компонентов, контролирующих гомеостаз ионов Ca^{2+} , как RyR2 (дисфункция), SERCA (снижение активности) и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника (активация) [100,287]. Как уже было отмечено выше (см. подпункт 4.4.1.4), в условиях ХСН дисфункция RyR2 и функционально сопряжённых с ними IP3R2 инициирует диастолическую утечку ионов Ca^{2+} из СПР, вследствие чего истощаются запасы ионов Ca^{2+} в СПР и уменьшается высвобождение ионов Ca^{2+} в систолу и, напротив, повышается цитозольный уровень ионов Ca^{2+} в диастолу, что, естественно, влечёт за собой дальнейшее ухудшение как систолической, так и диастолической функции желудочков сердца. Помимо этого, повышенный в диастолу уровень ионов Ca^{2+} рассматривают как триггер аритмогенеза.

Развитие фундаментальных представлений о роли дисфункции RyR2 в патогенезе ХСН и инициации злокачественных нарушений сердечного ритма позволило говорить о потенциале RyR2 как терапевтической мишени. [100].

Общепринято, что в ответ на стимуляцию катехоламинами β_1 AR индуцируют положительные инотропные, лузитропные и хронотропные ответы кардиомиоцитов посредством активации сопряжённого с β_1 AR сигнального пути Gs-AC-cAMP-РКА. Впоследствии РКА приводит к фосфорилированию группы ключевых белков-мишеней, участвующих в сопряжении возбуждения и сокращения сердца, включая LTCCs, тем самым обеспечивая вход триггерных ионов Ca^{2+} в цитозоль кардиомиоцитов. Показано, что стимуляция катехоламинами β_2 AR, в отличие от β_1 AR, инициирует активацию не только Gs, но и Gi белков и, следовательно, сопряжённого с ними Gi-G $\beta\gamma$ -PI3K-Akt сигнального каскада, который, в отличие Gs-AC-cAMP-РКА сигнального пути, регулирует не процессы электромеханического сопряжения кардиомиоцитов, а процессы способствующие их выживанию [49,262], в частности опосредует антиапоптотическое действие, связанное со стимуляцией β_2 -AR [348,349]. Авторы этих

исследований полагают, что «представляется правдоподобным рассмотреть возможность использования усиленной передачи сигналов с β 2-AR для улучшения работы сердец с ХСН».

Таким образом, восстановление на мембране кардиомиоцитов пулов β 1- и β 2-ARs на фоне терапии соединением АЛМ-802 можно рассматривать как важный механизм, лежащий в основе его кардиопротективного действия, способствующий не только восстановлению сократительной функции кардиомиоцитов, но и активации сигнальных каскадов, ответственных за их выживание. Помимо этого, на фоне восстановления пула β -ARs и, соответственно, восстановления активности Gs-AC-cAMP-PKA сигнального каскада возможна нормализация функциональной активности критических компонентов, контролирующих гомеостаз ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах.

Вместе с тем, если принять во внимание данные о том, что соединение АЛМ-802 обладает свойствами антагониста RyR2, то возникает вопрос, за счёт чего будет осуществляться «поставка» ионов Ca^{2+} из СПР в цитозоль кардиомиоцитов?

- Во-первых, говоря об RyR2, следует отметить, что их блокада соединением АЛМ-802 будет препятствовать диастолической утечке ионов Ca^{2+} из СПР и тем самым восстановлению в условиях ХСН как систолической, так и диастолической функции желудочков сердца и снижать риск развития аритмогенеза;
- Во-вторых, наблюдаемое на фоне курсовой терапии соединением АЛМ-802 восстановление пула RyR2, по всей видимости, является следствием хорошо известного феномена «"up-regulation" (регуляция вверх) – компенсаторное увеличение числа (плотности) рецепторов на фоне их длительной блокады» [255];
- В-третьих, известно, что «RyR2 находятся в постоянном функциональном взаимодействии с также встроенными в мембрану СПР кальций-высвобождающими каналами – инозитол-1,4,5-трифосфатными рецепторами (IP3R)» [330]. В сердце IP3R играют важную роль, модулируя кальциевые сигналы в ответ на внеклеточную стимуляцию. Хотя уровень экспрессии IP3R считается относительно низким по сравнению с таковым для RyR2 [132,253], в сердце IP3R играют важную роль, модулируя кальциевые сигналы в ответ на внеклеточную стимуляцию [124]. Передача внеклеточных стимулов, инициирующих IP3R-опосредованное выделение ионов Ca^{2+} из СПР, обеспечивается не только рецепторами, сопряжёнными с G-белками и активирующими фосфолипазу C (PLC) и выработку инозитол-1,4,5-трифосфата (IP3) – непосредственного активатора IP3R, но и сопряжённой с β ARs cAMP [65,301]. В этом случае за активацию IP3R ответственен cAMP-PKA внутриклеточный сигнальный каскад. [320]. Поскольку на фоне курсовой терапии соединением АЛМ-802 восстанавливается пул β ARs, то можно полагать, что регуляция систолического выброса ионов Ca^{2+} из СПР будет реализована за

счёт РКА-опосредованной активации IP3R2. Кроме того, эти рецепторные каналы также входят в состав микродоменов между мембранами митохондрий и СПР (мембраны, ассоциированные с митохондриями или МАМ-комплекс), [154,212] и обеспечивают прямую доставку ионов Ca^{2+} к митохондриальному унипортеру (MCU), регулируя окислительное фосфорилирование и процессы энергообеспечения кардиомиоцитов [79].

При изучении молекулярных механизмов было показано, что у животных с ХСН снижен уровень экспрессии генов для регуляторного белка Eрас1, что представляется логичным, поскольку известно, что они сопряжены с β_1AR . Тогда как на фоне курсовой терапии соединением АЛМ-802 отмечена тенденция к восстановлению уровня экспрессии генов для регуляторного белка Eрас1.

В конце XX века было показано, что в клетках, в том числе и в кардиомиоцитах, существует альтернативный, не зависящий от РКА, путь передачи сигнала сАМР посредством активации обменного белка, напрямую активируемого сАМР, Eрас (exchange protein directly activated by cAMP) [90]. Впоследствии было показано, что сигнальные каскады, активируемые $\beta_1AR-Gs-AC-cAMP-Eрас$, наряду с внутриклеточными каскадами, играют ключевую роль в регуляции гомеостаза ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах и тем самым регулируют процессы, ответственные за их электромеханическое сопряжение и ритмическую активность [123,298]. Более того, показано, что аномальная активность регуляторных белков Eрас1 играет важную роль в патогенезе ХСН [92,298]. В контексте настоящего исследования следует отметить, что регуляторные белки Eрас1, независимо от РКА, посредством активации малого G-белка Rap2В, стимулируют PLC, которая гидролизует фосфатидилинозитол (PIP2) с образованием IP3 – непосредственного активатора IP3R2 [274], т.е. активация IP3R2 и, как следствие этого, нормализация систолической и ритмической функции кардиомиоцитов, может быть опосредована за счёт как сопряжённых с РКА, так и Eрас1 сигнальных каскадов.

Таким образом, соединение АЛМ-802 в условиях сформировавшейся ХСН способствует восстановлению пула β_1 - и β_2 -адренорецепторов и связанных с ними внутриклеточных рецепторных каналов и регуляторных белков (RyR2, IP3R2 и Eрас1), что создаёт предпосылку к восстановлению гомеостаза Ca^{2+} и уменьшению степени ремоделирования левого желудочка сердца, что минимизирует риск нарушений сердечного ритма и снижает тяжесть ХСН.

4.5 Изучение спектра фармакологической активности соединения АЛМ-802

4.5.1 Изучение анксиолитической активности соединения АЛМ-802

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим лабораторией фармакологической регуляции состояний зависимости ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В.Закусова», д.б.н., проф. РАН Колик Л.Г [17].

Для изучения анксиолитической активности соединения АЛМ-802 использовали тест «приподнятый крестообразный лабиринт», как описано в подпункте 2.3.8, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили инбредных мышях-самцах линии BALB/c с генетически детерминированной «пассивной» реакцией на эмоционально-стрессовое воздействие в «открытом поле» (генетическая модель) с массой тела 18-20 г. Животные были рандомизированы на 4 группы: группа 1 – «контроль» (апирогенная вода для инъекций, в/б, n = 6); группа 2 – «АЛМ-802 1 мг/кг» (1 мг/кг, в/б, n = 6); группа 3 – «АЛМ-802 2 мг/кг» (2 мг/кг, в/б, n = 6); группа 4 – «АЛМ-802 4 мг/кг» (4 мг/кг, в/б, n = 6).

Показано, что, в зависимости от дозы мере, соединение АЛМ-802 при остром введении препятствует формированию тревожной реакции, обусловленной новизной ситуации, у мышей BALB/c, статистически значимо увеличивает время пребывания и число выходов в открытые рукава (ОР) лабиринта при отсутствии влияния на общую двигательную активность (ОДА) по сравнению с контрольной группой (таблица 4.14).

Таблица 4.14 – Влияние АЛМ-802 при однократном введении на поведение мышей линии BALB/c в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Группа	Поведенческие характеристики в ПКЛ		
	время в ОР, %	выходы в ОР, %	ОДА
Контроль	4,7±1,8	21,3±4,2	9,6±1,3
АЛМ-802 – 1,0 мг/кг	10,1±4,4	38,9±6,0 [#]	7,6±1,6
АЛМ-802 – 2,0 мг/кг	20,7±5,6*	52,2±10,1**	9,5±1,0
АЛМ-802 – 4,0 мг/кг	16,6±6,2	49,7±6,4**	8,8±1,5

Примечание – Указаны средние арифметические и их стандартные ошибки; * – p<0,05, ** – p<0,01, # – p<0,1 по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы (критерий Крускала-Уоллиса с дальнейшей обработкой по Данну).

Как следует из полученных данных, наиболее выраженный анксиолитический эффект соединения АЛМ-802 проявляется в дозе 2 мг/кг.

Анксиолитическую активность соединения АЛМ-802 в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» также изучали на беспородных белых крысах-самцах (450-480г в активной фазе эксперимента) со сформированной алкогольной зависимостью, при моделировании анксиогенеза, индуцированного отменой этанола. Состояние алкогольного абстинентного синдрома воспроизводили как описано в подпункте 2.4.10. Животные были рандомизированны на 3 группы: группа 1 – «интактные» (апирогенная вода для инъекций, в/б, n = 10); группа 2 – «алкогольная депривация» (апирогенная вода для инъекций, в/б, n = 10); группа 3 – «алкогольная депривация + АЛМ-802» (2 мг/кг, в/б, n = 10).

В сравнении с интактными животными (не имевшими доступа к раствору этанола, того же возраста, что и алкоголизованные животные), у крыс со сформированной в течение 20 недель алкогольной зависимостью (подтверждённой в эксперименте по показателю алкоголь-депривационного эффекта вкупе со среднесуточным потреблением этанола), алкогольная депривация, в течение 4-х недель, способствовала формированию выраженной тревожной реакции, выражающейся в сокращении времени нахождения в открытых рукавах ($p < 0,01$) и числе выходов в открытые рукава ($p < 0,05$) лабиринта (таблица 4.15). Соединение АЛМ-802 при хроническом системном введении в течение 28 дней в эффективной кардиотропной дозе 2,0 мг/кг предотвращало индуцированное отменой этанола снижение числа выходов в открытые рукава ПКЛ в процентном соотношении ($p < 0,05$), восстанавливая указанные параметры поведения до значений интактных животных (таблица 4.15).

Таблица 4.15 – Влияние АЛМ-802 (2,0 мг/кг, в/б, 28 дней) при хроническом введении на поведение беспородных крыс на фоне алкогольной депривации (28 дней) в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Группа	Поведенческие характеристики в ПКЛ		
	время в ОР, %	выходы в ОР, %	ОДА
Интактные	17,6±6,6	41,6±4,9	4,5±0,7
Алкогольная депривация	1,5±0,7**	10,0±5,6*	2,5±0,6
Алкогольная депривация + АЛМ-802	18,2±12,2	45,3±11,8[#]	3,8±1,0

Примечание – Указаны средние арифметические и их стандартные ошибки; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, по сравнению с соответствующими показателями группы «Интактные»; [#] – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими показателями группы «Алкогольная депривация» (критерий Крускала-Уоллиса с дальнейшей обработкой по Данну).

При изучении спектра фармакологической активности соединения АЛМ-802 впервые выявлена его анксиолитическая активность в диапазоне доз, оказывающих положительное влияние на функции сердечно-сосудистой системы. Анксиолитические свойства соединения АЛМ-802 показаны при разных режимах введения на различных моделях тревожного поведения

у двух видов грызунов (мыши и крысы). При однократном введении соединение АЛМ-802 доза-зависимо проявляло анксиолитическое действие у «высоко-тревожных» мышей BALB/c, увеличивая время нахождения в открытых рукавах в 4,4 раза по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты также подтверждают выявленные ранее особенности поведения алкоголизованных крыс при моделировании длительной алкогольной депривации (28 дней), указывающие на формирование анксиогенной реакции в условиях ПКЛ, при этом соединение АЛМ-802 купирует формирование повышенной тревожной реакции при длительной отмене этанола у зависимых крыс. Основываясь на данных литературы, ещё нужно отметить, что анксиолитические эффекты соединения АЛМ-802 сопоставимы, а в некоторых показателях превосходят таковые у Триметазидина, полученные в аналогичном эксперименте [16]. Кроме того, несомненным преимуществом АЛМ-802 является отсутствие влияния на общую двигательную активность (ОДА), что свидетельствует об отсутствии побочного седативного эффекта, характерного для классических анксиолитиков – производных бензодиазепа.

Изучение возможного механизма центрального действия соединения АЛМ-802 требует дальнейших исследований и на данном этапе исследований можно лишь предположить, что этот механизм связан с активностью RyR . Кроме этого, учитывая наличие общих фармакоформных элементов у соединения АЛМ-802 и триметазидина, логично предположить, что механизмы, определяющие центральное действие соединения АЛМ-802 могут быть близки к таковым, известным для триметазидина. Из литературных источников следует, что в основе центральных, нейропротекторных эффектов триметазидина лежит его антиоксидантная активность [95,167,278].

4.5.2 Изучение анальгетической активности соединения АЛМ-802

Данная серия экспериментов выполнена совместно с заведующим лабораторией фармакологической регуляции состояний зависимости ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», д.б.н., проф. РАН Колик Л.Г. [17].

Для изучения анальгетической активности соединения АЛМ-802 использовали тесты «горячая пластина» и «уксусные корчи», как описано в подпункте 2.3.9, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на мышах-самцах линии C57Bl/6, массой 20-24г. В тесте «горячая пластина» животные были рандомизированы на 5 групп: группа 1 – «контроль» (апирогенная вода для инъекций, в/б, n = 10); группа 2 – «Триметазидин» (8 мг/кг, в/б, n = 10); группа 3 – «АЛМ-802 2 мг/кг» (2 мг/кг, в/б, n = 10); группа 4 – «АЛМ-802 4 мг/кг» (4 мг/кг, в/б, n = 10); группа 5 – «АЛМ-802 8 мг/кг» (8 мг/кг, в/б, n = 10). А в тесте «уксусные корчи» животных рандомизировали на 4 группы: группа 1 – «контроль» (апирогенная вода для инъекций, в/б, n = 15); группа 2 – «Триметазидин»

(8 мг/кг, в/б, n = 15); группа 3 – «АЛМ-802 2 мг/кг» (2 мг/кг, в/б, n = 10); группа 4 – «АЛМ-802 8 мг/кг» (8 мг/кг, в/б, n = 10). Исследуемые соединения вводили за 30 минут до начала тестов.

Результаты экспериментов приведены на рисунках 4.9 и 4.8. При оценке влияния соединения АЛМ-802 на латентный период реакции при термической стимуляции (ЛПРТС) ноцицепторов у мышей линии С57В 1/6 в тесте «горячая пластина» было установлено, что порог реакции достоверно ($p < 0,05$) повышался через 30 минут после введения соединения АЛМ-802 в дозах 2 и 8 мг/кг и сохранялся через 90 и 120 минут в дозах 4 и 8 мг/кг ($p < 0,01$ и $p < 0,05$, соответственно). Выявлены зависимости «доза-эффект» и «время-эффект», согласно которым соединение АЛМ-802 проявляло максимальную активность в дозе 4 мг/кг через 90 минут после введения (рисунок 4.9). Триметазидин проявлял умеренную кратковременную анальгетическую активность ($p < 0,05$) только через 30 минут после введения в эффективной дозе 8 мг/кг (рисунок 4.10). При сопоставлении активности соединения АЛМ-802 с референтным препаратом триметазидином установлено, что в условиях термической стимуляции ноцицепторов триметазидин при однократном введении в эффективной дозе 8,0 мг/кг по своей анальгетической активности и её продолжительности в тесте «горячая пластина» значительно уступает соединению АЛМ-802.

При оценке антиноцицептивного действия соединения АЛ-802 и триметазида при моделировании тонической висцеральной боли в тесте «уксусные корчи» установлено, что соединение АЛМ-802 в дозах 2 и 8 мг/кг при однократном введении дозозависимо снижает количество лордозов, индуцированных 0,75% уксусной кислотой. Наибольшую активность соединение АЛМ-802 проявляло в дозе 8 мг/кг, превосходя по выраженности эффекта

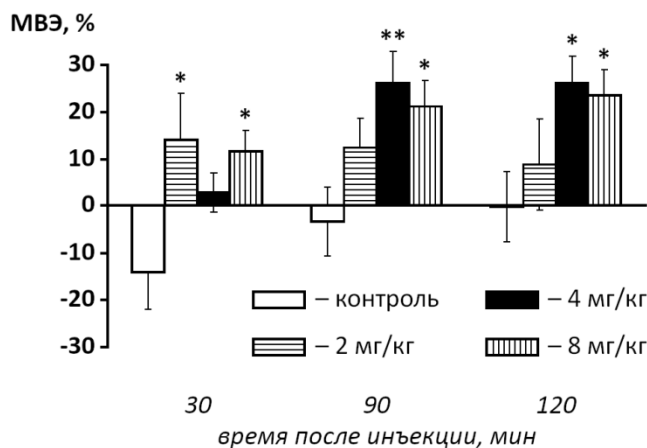


Рисунок 4.9 – Влияние соединения АЛМ-802 (2, 4 и 8 мг/кг, в/б) на латентный период реакции при термической стимуляции мышей линии С57В1/6 в тесте «горячая пластина» [17]

Примечание – * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

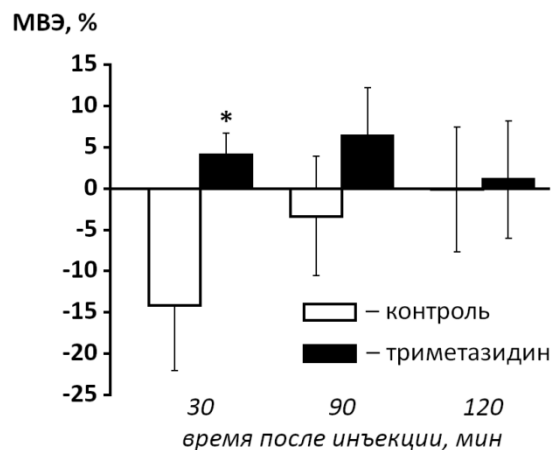


Рисунок 4.10 – Влияние триметазида (8 мг/кг, в/б) на ЛПРТС у мышей линии С57В1/6 в тесте «горячая пластина» [17]

Примечание – * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (по U-критерию Манна-Уитни).

референтный препарат триметазидин, который также обладает анальгетической активностью в данном тесте ($p < 0,05$) (рисунок 4.11).

Порученные результаты позволят говорить о том, что увеличение порогов болевой реакции на супраспинальном уровне свидетельствует о наличии у соединения АЛМ-802 центральных компонентов действия.

Механизмы, лежащие в основе анальгетической активности соединения АЛМ-802 требуют дальнейшего изучения, однако нельзя исключить, что они могут быть сопоставимы с таковыми известными для триметазида, анальгетическая активность которого показана как в эксперименте [42], так и в клинике [306]. Согласно данным Abdel-Salam O.M., El-Batran S. анальгетическое действие триметазида зависит от предварительной блокады рецепторов йохимбином и теофиллином, но не налоксоном, что предполагает участие центральных неопиоидергических механизмов в реализации данного вида фармакологической активности препарата [42]. Это предположение косвенно подтверждается полученными ранее данными об анксиолитической активности триметазида на экспериментальных моделях [16].

Таким образом, впервые нами выявлены анальгетические свойства соединения АЛМ-802, которые проявляются в диапазоне доз, обладающих кардиопротективной активностью.

4.5.3 Изучение актопротекторной активности соединения АЛМ-802

Для оценки актопротекторной активности соединения АЛМ-802 использовали тест «Тредбан», как описано в подпункте 2.3.10, статистическую обработку результатов проводили, как описано там же. Эксперименты проводили на нелинейных белых мышах-самцах массой 20-30г.

На первом этапе – «Тренировка и рандомизация», по результатам тренировочных забегов в эксперимент были отобраны животные, преодолевавшие приблизительно одинаковую дистанцию (240 – 260 м), которых рандомизировали на три группы: группа 1 – «контроль» (физраствор, в/б, $n = 10$); группа 2 – «Триметазидин» (30 мг/кг, в/б, $n = 10$); группа 3 – «АЛМ-802 2 мг/кг» (2 мг/кг, в/б, $n = 10$). Группы животных между собой были близки по показателю выносливости, определяемого величиной пройденной дистанции. Исследуемые соединения в

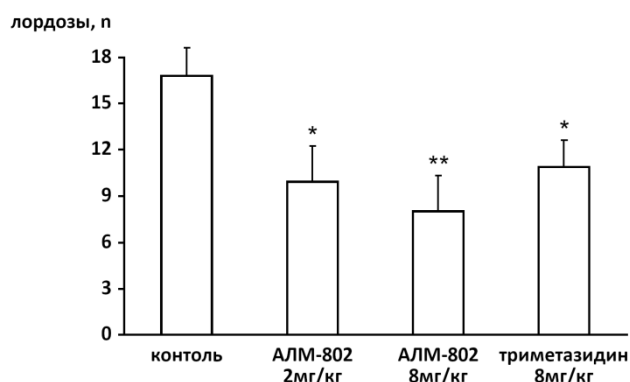


Рисунок 4.11 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 и 8 мг/кг) и триметазида (8 мг/кг) на количество лордозов у мышей линии С57В1/6 в тесте «уксусные корчи» [17]

Примечание – * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

указанных дозах вводили дважды: за 30 минут перед «Контрольным забегом» (см. далее) и второй раз сразу же после «Контрольного забега».

На втором этапе – «Контрольный забег», который проводили через 2 дня отдыха после рандомизации, в забеге до полного утомления, животные контрольной группы пробежали дистанцию $259,2 \pm 26,1$ м, что соответствовало величине пройденной дистанции животными до рандомизации. Мыши, получавшие триметазидин, пробежали несколько большую дистанцию – $285,3 \pm 36,0$ м, однако, отличия от контрольной группы не были значимыми (таблица 4.16). Соединение АЛМ-802, так же как и триметазидин, не оказывало существенного влияния на величину пройденной дистанции (таблица 4.16 и рисунок 4.12).

Таблица 4.16 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/б) и триметазида (30 мг/кг, в/б) на дистанцию, пробегаемую мышами на тредбане до полного утомления в «Контрольном забеге».

Группа	Доза, мг/кг	n	Дистанция, м*	p [#]
Контроль	---	10	$259,2 \pm 26,1$	---
АЛМ-802	2	10	$277,9 \pm 37,6$	0,6
Триметазидин	30	10	$285,3 \pm 36,0$	0,4

Примечание – * – представлены средние арифметические показатели и их стандартные ошибки; # – по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

На третьем этапе – «Оценка способности восстановления», проведенном на следующий день после «Контрольного забега», наблюдалась иная картина. Животные, получившие накануне экспериментальную терапию соединением АЛМ-802, пробежали до полного утомления дистанцию на 68% больше, чем животные контрольной группы ($387,9 \pm 60,5$ и $230,6 \pm 29,6$ метров соответственно, $p=0,023$; таблица 4.17). В отличие от соединения АЛМ-802, триметазидин, так же как и в «Контрольном забеге», не оказал значимого влияния на величину пройденной дистанции, ($p=0,3$ по сравнению с контролем; таблица 4.17 и рисунок 4.12).

Таблица 4.17 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/б) и триметазида (30 мг/кг, в/б) на дистанцию, пробегаемую мышами на тредбане до полного утомления, через одни сутки после «Контрольного забега».

Группа	Доза, мг/кг	n	Дистанция, м*	p [#]
Контроль	---	10	$230,6 \pm 29,6$	---
АЛМ-802	2	10	$387,9 \pm 60,5$	0,023
Триметазидин	30	10	$278,0 \pm 27,9$	0,3

Примечание – * – представлены средние арифметические показателя и их стандартные ошибки; # – по отношению к контролю (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

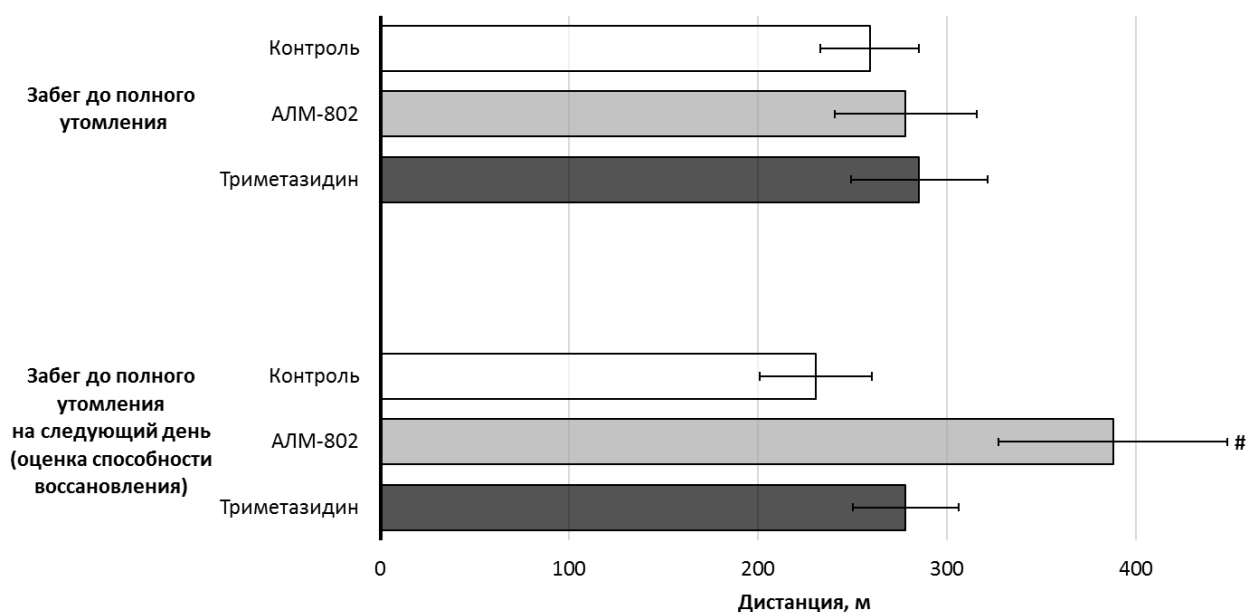


Рисунок 4.12 – Влияние соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/б) и триметазидина (30 мг/кг, в/б) на дистанцию, пробегаемую мышами на тредбане до полного утомления

Примечание – [#] – $p=0,023$, по отношению к контролю, в соответствующем забеге (однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой по Даннету).

Как следует из полученных данных, изучаемые соединения, вводимые за 30 минут до нагрузки не оказывают значимого влияния на выносливость. Но, в тоже время, с учётом второй инъекции сразу после острого утомления в «Контрольном забеге», соединение АЛМ-802 способствует восстановлению работоспособности, продемонстрированной животными на следующий день в забеге до полного утомления, тогда как препарат сравнения – триметазидин такого эффекта не показал.

На данном этапе изучения соединения АЛМ-802 можно предположить, что эффект восстановления работоспособности определяется кардиопротекторными свойствами, связанными со способностью стабилизировать обмен внутриклеточного Ca^{2+} , что смягчает стрессовое воздействие острого утомления на миокард. Однако, если учитывать центральные эффекты соединения АЛМ-802, выявленные при оценке анальгетической и анксиолитической активности, нельзя исключить и центральный механизм действия. К тому же, способность структурных аналогов соединения АЛМ-802 модулировать использование энергетических субстратов, не даёт основания исключить подобный механизм актопротекторного действия.

Таким образом, полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802 помимо кардио- и нейротропной активности обладает ещё и актопротекторным действием.

По результатам изучения механизмов действия и спектра фармакологической активности соединения АЛМ-802:

Получено 3 патента РФ:

- Патент № 2744681 С1 РФ. – EDN NEQRWZ.
- Патент № 2773018 С2 РФ. – EDN OFTLZS.
- Патент № 2784542 С2 РФ. – EDN RQATPW.

Опубликовано 7 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

- Противоишемическая активность триамина АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции / В. В. Барчуков, И. Б. Цорин, А. М. Лихошерстов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 167, № 4. – С. 443-446. – EDN VXULRM.
- Хроническая сердечная недостаточность: Трансляционная модель / С. А. Крыжановский, И. Б. Цорин, В. Н. Столярук [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 167, № 5. – С. 655-660. – EDN GHRLMS.
- Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 / Л. М. Кожевникова, В. В. Барчуков, Н. П. Семенова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 9. – С. 301-305. – DOI 10.47056/0365-9615-2020-170-9-301-305.
- Экспериментальная оценка анксиолитических и анальгетических свойств нового производного линейных метоксифенилтриазаалканов с кардиотропной активностью / Л. Г. Колик, А. В. Надорова, И. Б. Цорин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 12. – С. 752-758. – DOI 10.47056/0365-9615-2020-170-12-752-758.
- Выбор тактики экспериментальной терапии хронической сердечной недостаточности соединением АЛМ-802 / В. В. Барчуков, И. Б. Цорин, М. Б. Вититнова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 12. – С. 764-767. – DOI 10.47056/0365-9615-2020-170-12-764-767.
- Механизмы антиаритмического действия соединения АЛМ-802 / И. Б. Цорин, И. Ю. Теплов, В. П. Зинченко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 174, № 8. – С. 179-183. – DOI 10.47056/0365-9615-2022-174-8-179-183.
- Особенности антиаритмического действия соединения АЛМ-802 / В. В. Барчуков, В. П. Зинченко, И. Б. Цорин [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – № 3. – С. 56-67. – DOI 10.37489/2587-7836-2023-3-56-67.

Опубликовано 4 статьи в научных журналах входящих в РИНЦ:

- Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс / С. А. Крыжановский, И. Б. Цорин, Е. О. Ионова [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62, № 2. – С. 136-148. – DOI 10.25557/0031-2991.2018.02.136-148.
- Оценка экспрессии генов рецепторных и регуляторных белков в миокарде крыс с хронической сердечной недостаточностью / Л. М. Кожевникова, И. Б. Цорин, В. Н. Столярук [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62, № 4. – С. 28-35. – DOI 10.25557/0031-2991.2018.04.28-35.
- Сравнительное изучение антиишемической активности триметазида и соединения АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции / В. В. Барчуков, И. Б. Цорин, А. М. Лихошерстов [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 2. – С. 23-27. – DOI 10.24411/2587-7836-2019-10042.
- Кардиопротекторные эффекты соединения АЛМ-802 на моделях субэндокардиальной ишемии / И. Б. Цорин, В. В. Барчуков, М. Б. Вититнова [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 1. – С. 18-22. – DOI 10.37489/2587-7836-2021-1-18-22.

Опубликовано 10 тезисов докладов в материалах научных съездов и конференций:

- Изучение противоишемической активности представителя ряда α,ω -диарилметильных производных бис-(ω -аминоалкил)аминов - соединения АЛМ-802 на модели острой эндокардиальной ишемии миокарда у крыс с эндотелиальной дисфункцией / В. В. Барчуков, И. Б. Цорин, М. Б. Вититнова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 23. – EDN OSRWXF.
- Трансляционная модель сердечной недостаточности / С. А. Крыжановский, И. Б. Цорин, В. Н. Столярук [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 128. – EDN XOTVAD.
- Барчуков, В. В. Изучение противоишемического действия производного триамина – соединения АЛМ-802 и препарата ранолозина на модели острой эндокардиальной ишемии миокарда у крыс с эндотелиальной дисфункцией / В. В. Барчуков // Материалы Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина "Достижения современной фармакологической науки", Рязань, 08–10 ноября 2018 года / Под ред. Е.Н. Якушевой. – Рязань: Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, 2018. – С. 18-19. – EDN YMSZJJ.
- Альфа, омега-диарилметильные производные бис-(омега-аминоалкил) аминов – новый класс кардиопротективных лекарственных средств / В. В. Барчуков, И. Б. Цорин,

- А. М. Лихошерстов, [и др.] // Содержание сборника тезисов "VII Евразийского Конгресса кардиологов" (17-18 мая 2019 года, Г. Ташкент) // Евразийский кардиологический журнал. – 2019. – № S2. – С. 385. – EDN ORXQJH.
- Сравнительная оценка влияния эндотелиальной дисфункции на антиишемическую активность р-foх-ингибиторов на модели субэндокардиальной ишемии у крыс / И. Б. Цорин, В. В. Барчуков, А. М. Лихошерстов, [и др.] // Содержание сборника тезисов "VII Евразийского Конгресса кардиологов" (17-18 мая 2019 года, Г. Ташкент) // Евразийский кардиологический журнал. – 2019. – № S2. С. 387. – EDN GIDRSL.
 - К механизму антиаритмического действия N¹ - (2,3,4 - триметоксибензил) - N² - {2 - [(2,3,4 - триметоксибензил)амино]этил} - 1,2 – этандиамина / В. В. Барчуков, В. П. Зинченко, И. Б. Цорин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 13-14. – DOI 10.30906/ekf-2023-86s-13b.
 - Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективной активности N¹ - (2,3,4 - триметоксибензил) - N² - {2 - [(2,3,4 - триметоксибензил)амино]этил} - 1,2 – этандиамина / Л. М. Кожевникова, В. В. Барчуков, И. Б. Цорин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 75. – DOI 10.30906/ekf-2023-86s-75a.
 - Дизайн, синтез и фармакологическое изучение мультитаргетных биароматических кардиопротекторов / Г. В. Мокров, В. В. Барчуков, С. А. Крыжановский // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 109. – DOI 10.30906/ekf-2023-86s-109.
 - Изучение рецепторных механизмов кардиопротективного действия N¹ - (2,3,4 - триметоксибензил) - N² - {2 - [(2,3,4 - триметоксибензил)амино]этил} - 1,2 – этандиамина / В. Н. Столярук, В. В. Барчуков, В. П. Зинченко [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 141. – DOI 10.30906/ekf-2023-86s-141.
 - Скрининг кардиотропной активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилтриаалканов с целью выявления соединения – лидера и его дальнейшее доклиническое фармакологическое изучение / И. Б. Цорин, В. В. Барчуков, В. П. Зинченко, [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 154. – DOI 10.30906/ekf-2023-86s-154a.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На первом этапе исследования, в результате скрининга кардиотропной активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилаалканов прослежена взаимосвязь «структура-действие» и выявлено соединение – лидер.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что на модели аконитиновой аритмии в подгруппе линейных алкоксифенилаалканов наибольшую антиаритмическую активность проявляют производные с 2,3,4-триметоксифенильными группами – соединения АЛМ-802, АЛМ-844, АЛМ-845. Помимо этого, антиаритмическая активность также была выявлена у веществ с 2,3-диметоксифенильными группами (соединение АЛМ-815) и с 2,5-диметоксифенильными группами (соединение АЛМ-821). В подгруппе пиперазин-содержащих циклических алкоксифенилаалканов активными были лишь соединения с триметоксифенильными группами. При этом антиаритмическими свойствами обладало как 2,3,4-триметокси-производное – соединение АЛМ-840, так и 3,4,5-триметокси-производное – соединение АЛМ-839.

Иная картина наблюдалась при анализе связи «структура-действие» на модели хлоридкальциевой аритмии. В этом случае в группе циклических алкоксифенилаалканов ни одно из веществ не проявляло активность. Среди линейных алкоксифенилаалканов активными были соединения с 2,3,4-триметоксифенильными заместителями (соединения АЛМ-802 и АЛМ-844), 3,4,5-триметокси-производное соединение АЛМ-802 и 2,4- и 3,4-диметокси-производные (соединения АЛМ-812 и АЛМ-843).

На модели реперфузионных аритмий циклические алкоксифенилаалканы также были полностью лишены активности. При этом среди линейных алкоксифенилаалканов статистически значимо препятствовали развитию аритмий только 2,3,4-триметокси-производные соединения линейных алкоксифенилаалканов – соединения АЛМ-802 и АЛМ-811, отличающиеся длиной линкера на одно метиленовое звено, а также 2,5-диметокси-производное – соединение АЛМ-821.

Таким образом, на всех использованных моделях аритмий целевую активность проявляет лишь 2,3,4-триметокси-производное из группы линейных алкоксифенилаалканов – соединение АЛМ-802.

При анализе связи «структура-антиишемическая активность» в ряду линейных и циклических алкоксифенилаалканов было установлено, что целевую активность проявляют только соединения с линейным линкером, в то время как введение пиперазинового или пиперазин-2,3-дионового фрагментов приводило к полной потере активности. При этом, так же как и в случае антиаритмической активности, лучшие результаты в группе линейных

алкоксифенилазаалканов были получены для 2,3,4-триметокси-замещенных соединений (соединения АЛМ-802, АЛМ-811, АЛМ-844, АЛМ-845).

Таким образом, важным для реализации противоишемического действия у линейных алококсифенилазаалканов являлось наличие метокси-группы в орто-положениях фенильных колец и хотя бы одной метокси-группы в мета- или пара- положениях.

Анализ результатов скрининговых исследований, а также взаимосвязи «структура действие» свидетельствует о том, что наибольшей кардиотропной активностью обладает соединение N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ-802), которое эффективно препятствует развитию нарушений сердечного ритма на моделях аконитиновой ($p < 0,001$), хлоридкальциевой ($p = 0,008$) и реперфузионных ($p < 0,001$) аритмий и модели субэндокардиальной ишемии ($p < 0,001$). Наиболее близким по спектру кардиотропной активности к соединению АЛМ-802 является соединение АЛМ-844, которое препятствует развитию нарушений сердечного ритма на моделях аконитиновой ($p < 0,014$) и хлоридкальциевой ($p < 0,045$) аритмий, а также на модели субэндокардиальной ишемии ($p < 0,001$), однако оно не эффективно на модели реперфузионных аритмий ($p > 0,05$) и \approx в 2 раза токсичнее соединения АЛМ-802.

На следующем этапе исследований в сравнительном аспекте оценили целевую активность соединения-лидера и эталонных лекарственных средств. Так, было показано:

- На модели аконитиновой аритмии соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) по своей активности, как минимум, не уступает эталонному для этой модели препарату прокаинамид (20 мг/кг, в/в). Эталонные рFOX-ингибиторы, препараты триметазидин (30 мг/кг, в/в) и ранолазин (10 мг/кг, в/в), на этой модели не эффективны;
- На модели хлоридкальциевой аритмии соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) по своей активности превосходит эталонный для этой модели препарат верапамил (1 мг/кг, в/в) и рFOX-ингибитор ранолазин (10 мг/кг, в/в). Триметазидин (30 мг/кг, в/в) на этой модели не эффективен;
- На модели реперфузионных аритмий соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) по своей активности сопоставимо эталонным на этой модели препаратом верапамилом (1 мг/кг, в/в) и рFOX-ингибитором ранолазином (10 мг/кг, в/в). Триметазидин (30 мг/кг, в/в) на этой модели не эффективен;
- На модели субэндокардиальной ишемии соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) по своей активности сопоставимо с эталонным на этой модели препаратом верапамилом (1 мг/кг, в/в) и превосходит эталонные рFOX-ингибиторы, препараты триметазидин (30 мг/кг, в/в) и ранолазин (10 мг/кг, в/в).

Следует также отметить, что если на модели субэдокардиальной аритмии, воспроизводимой у животных с интактным сосудистым руслом, эталонные рFOX-ингибиторы препараты триметазидин (30 мг/кг, в/в) и ранолазин (10 мг/кг, в/в) проявляют достаточно выраженную антиишемическую активность, то на модели субэдокардиальной аритмии, воспроизводимой у животных с эндотелиальной дисфункцией, они не эффективны ($p > 0,05$), тогда как соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) сохраняет свою антиишемическую активность.

Таким образом, сравнительная оценка антиаритмической активности соединения – лидера АЛМ-802 свидетельствует, что оно по своей целевой активности, как минимум, сопоставимо с эталонными препаратами (прокаионамид и верапамил) и превосходит эталонные рFOX-ингибиторы ранолазин (антиаритмическая и антиишемическая активность) и триметазидин (антиишемическая активность). Отсутствие в наших экспериментах антиаритмической активности у рFOX-ингибитора триметазидина не вызывает удивления, поскольку препарат, согласно литературным данным, таковой не обладает.

На завершающем этапе исследований изучали механизмы, лежащие в основе кардиопротективной активности соединения – лидера АЛМ-802 (рисунок 5.1).

В экспериментах *in vitro*, выполненных на нейроглиальной культуре клеток гиппокампа, измерение мембранного потенциала и ионных токов проводили методом пэтч-кламп в конфигурации whole cell. Показано, что аппликация в экспериментальную камеру раствора Хэнкса, содержащего 69,8 μM АЛМ-802 (данная концентрация эквивалентна эффективной дозе соединения АЛМ-802 2 мг/кг, в/в, известной из экспериментов *in vivo*), приводила к уменьшению амплитуды и частоты потенциалов действия, что может свидетельствовать об ингибировании трансмембранных потенциалзависимых ионных Na^+ - и инактивации K^+ -каналов.

Для оценки влияния соединения АЛМ-802 на трансмембранные потенциалзависимые ионные Ca^{2+} -каналы были произведены аналогичные эксперименты в присутствии 100 нМ тетродотоксина во внеклеточном растворе. Показано, что соединение АЛМ-802 (69,8 μM) не влияет на активность трансмембранных потенциалзависимых ионных Ca^{2+} -каналов даже при двух- и трёхкратном увеличении его концентрации.

Далее в экспериментах *in vitro*, выполненных на нейроглиальной культуре клеток гиппокампа, изучили влияние соединения АЛМ-802 (69,8 μM) на трансмембранные ионные Na^+ - и K^+ -токи. Показано, что соединение АЛМ-802 уменьшало генерируемые в ответ на деполяризацию мембраны до -30 мВ Na^+ - и K^+ -токи (относительно контроля). Затем была произведена серия экспериментов для количественной оценки зависимости Na^+ - и K^+ -токов от концентрации соединения АЛМ-802, для чего были построены кривые зависимости доза-эффект. Показано, что концентрация полумаксимального ингибирования IC_{50} составляет для Na^+ -каналов $94 \pm 4 \mu\text{M}$, а для K^+ -каналов $\text{IC}_{50} = 67 \pm 3 \mu\text{M}$.

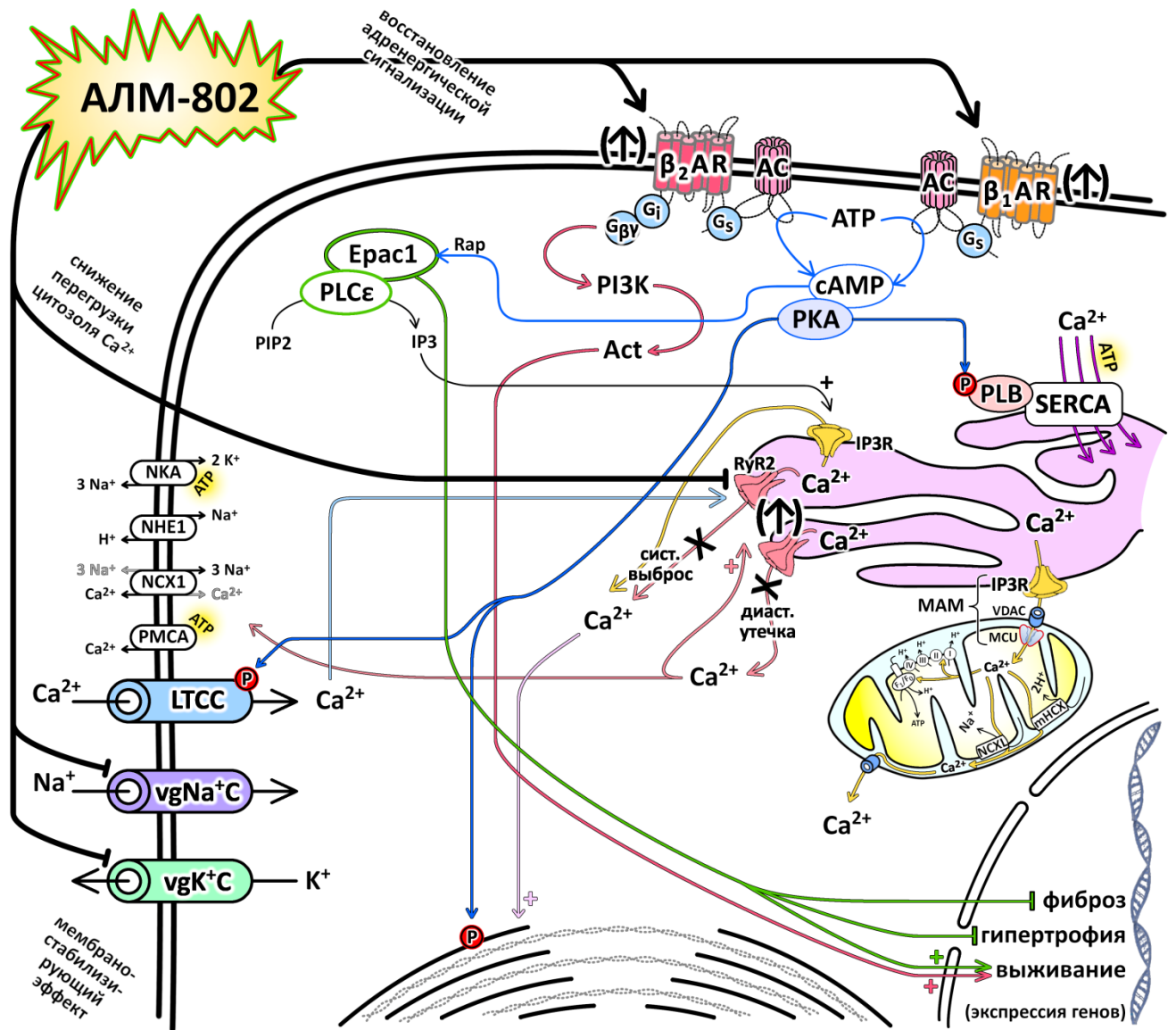


Рисунок 5.1 – Предполагаемый механизм действия и эффекты соединения АЛМ-802 (объяснение в тексте)

Таким образом, результаты настоящей серии экспериментов свидетельствуют о том, что антиаритмическая активность соединения АЛМ-802 во многом может быть связана с его способностью блокировать трансмембранные потенциалзависимые ионные Na^+ - и, в большей степени, ионные K^+ -каналы, что позволяет говорить о том, что соединение АЛМ-802 сочетает в себе свойства антиаритмических лекарственных средств I и III классов по классификации Vaughan Williams. Эти данные хорошо коррелируют с результатами, полученными нами при оценке спектра антиаритмической активности соединения АЛМ-802 на моделях токсических (аконитиновая, хлоридкальциевая и хлоридбариевая) аритмий.

В следующей серии экспериментов *in vitro* с помощью двухволнового зонда Fura-2 изучали влияния соединения АЛМ-802 (69,8 μM) на повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , вызванное деполяризацией, которую вызывали добавлением в среду 35 мМ KCl, что сопровождается повышением концентрация ионов Ca^{2+} в цитозоле. Как следует из полученных

данных, соединение АЛМ-802 во время деполяризации эффективно препятствует повышению концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле. Механизм этого эффекта соединения АЛМ-802 был не ясен, однако, поскольку было показано, что соединение АЛМ-802 не влияет на активность трансмембранных потенциалзависимых ионных Ca^{2+} -каналов, можно было предположить, что уменьшение под его действием кальциевого ответа при деполяризации мембраны обусловлено ингибированием соединением АЛМ-802 выброса ионов Ca^{2+} из цистерн СПР.

Для ответа на этот вопрос в следующей серии экспериментов *in vitro*, выполненных на изолированной полоске миокарда, оценивали влияние соединения АЛМ-802 на RyR2 . Показано, что агонист RyRs кофеин (5×10^{-5}) значимо ($p < 0,05$) увеличивает силу сокращений полоски миокарда. Соединение АЛМ-802 (1×10^{-5}) в существенной мере уменьшает силу регистрируемой силы сокращений изолированной полоски миокарда ($p < 0,05$) и полностью блокирует положительный инотропный ответ полоски на кофеин.

В целом, говоря о результатах, полученных в экспериментах *in vitro* при изучении механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802, следует отметить, что они носят комплексный характер и, как минимум, включают в себя его способность блокировать трансмембранные потенциалзависимые ионные Na^{+} - и K^{+} -каналы, а также RyR2 .

В экспериментах *in vivo* изучали влияние соединения АЛМ-802 на деполяризацию желудочков сердца в острейшую фазу инфаркта миокарда. Показано, что в процессе деполяризации левого желудочка сердца у животных с острой ишемией миокарда на фоне соединения АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) выявлено сохранение местоположения областей ранней деполяризации – в области прикрепления папиллярных мышц в средней части свободной стенки левого желудочка и субэндокарда его свободной стенки. Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях острой ишемии миокарда соединение АЛМ-802 проявляет антиаритмическую активность, которая обусловлена его способностью препятствовать формированию в миокарде очагов ранней аномальной деполяризации и удлинять время деполяризации левого желудочка и, как следствие этого, препятствовать возникновению угрожающих жизни эпизодов фибрилляции желудочков сердца.

При оценке влияния соединения АЛМ-802 на инотропную функцию сердца и размеры его левого желудочка на разработанной нами трансляционной модели хронической постинфарктной сердечной недостаточности показано, что курсовая терапия соединением (2 мг/кг/сутки, в/б, в течение 4 нед., начало введения через 3 мес. после окклюзии коронарной артерии) вызывает уменьшение размеров полости левого желудочка. Например, у них, в отличие от контрольных животных, КСР не увеличился, а уменьшился на 0,23 мм. За время терапии ФВ у леченных

животных статистически значимо ($p = 0,038$) увеличилась (на 11%), тогда как у контрольных животных она уменьшилась с $58,2 \pm 4,6\%$ до $55,5 \pm 3,2\%$.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что курсовая экспериментальная терапия соединением АЛМ-802, начатая в условиях сформировавшейся постинфарктной сердечной недостаточности, способствует обратному ремоделированию левого желудочка сердца, что наряду со статистически значимым увеличением его инотропной функции позволяет говорить о том, что на фоне терапии соединением АЛМ-802 снижается тяжесть течения ХСН.

При изучении молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 в условиях сформировавшейся ХСН, показано, что у животных с ХСН по сравнению с ложноперирированными в миокарде левого желудочка происходит статистически значимое ($p < 0,05$) снижение уровня экспрессии мРНК генов для β_1 - и β_2 -адренорецепторов, тогда как на фоне курсовой терапии соединением АЛМ-802 (2 мг/кг/сутки, в/б, в течение 4 нед., начало введения через 3 мес. после окклюзии коронарной артерии) уровень экспрессии генов этих рецепторов восстанавливается, различие статистически значимо – $p = 0,00001$ и $p = 0,01$, соответственно. У контрольных животных по сравнению с ложноперирированными в миокарде левого желудочка также происходит статистически значимое ($p < 0,05$) снижение экспрессии мРНК генов для $RyR2$, которая восстанавливается на фоне терапии соединением АЛМ-802 – $p = 0,008$. Также на фоне терапии соединением АЛМ-802 отмечено достоверное ($p = 0,0004$) снижение гиперэкспрессии мРНК генов для $IP3R2$ и отчётливая тенденция к восстановлению уровня экспрессии мРНК генов для регуляторного белка $Eras1$.

Таким образом, восстановление на мембране кардиомиоцитов пулов β_1 -AR и β_2 -AR на фоне терапии соединением АЛМ-802 можно рассматривать как важный механизм, лежащий в основе его кардиопротективного действия, способствующий не только восстановлению сократительной функции кардиомиоцитов, но и активации сигнальных каскадов, ответственных за их выживание. Помимо этого, на фоне восстановления пула β -AR_s и, соответственно, восстановления активности G_s -AC-cAMP-PKA сигнального каскада возможна нормализация функциональной активности критических компонентов, контролирующих гомеостаз ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах, в том числе оптимизация поступления ионов Ca^{2+} из СПР за счёт PKA-опосредованной активации $IP3R2$. Известно, что $IP3R2$ находятся в постоянном функциональном взаимодействии с также встроенными в мембрану СПР кальций-высвобождающими каналами $RyR2$. Не менее важно и то, что β_1 -AR могут регулировать поступление ионов Ca^{2+} в цитозоль кардиомиоцитов из СПР посредством активации сопряжённых с ними регуляторных белков $Eras1$, которые независимо от PKA, путем активации

малого G-белка $g\alpha_{i2}$ стимулируют PLC, инициирующую гидролиз фосфатидилинозитола (PIP₂) с образованием IP₃ – непосредственного активатора IP₃R₂.

Не менее важно и то, что соединение АЛМ-802, обладая свойствами антагониста RyR₂, будет препятствовать диастолической утечке ионов Ca²⁺ из СПР и тем самым способствовать восстановлению в условиях ХСН как систолической, так и диастолической функции желудочков сердца и снижать риск развития аритмогенеза.

Таким образом, соединение АЛМ-802 в условиях сформировавшейся ХСН способствует восстановлению пула β_1 - и β_2 -адренорецепторов и связанных с ними внутриклеточных рецепторных каналов и регуляторных белков (RyR₂, IP₃R₂ и Erac1), что создаёт предпосылку к восстановлению гомеостаза Ca²⁺ и уменьшению степени ремоделирования левого желудочка сердца, что минимизирует риск нарушений сердечного ритма и снижает тяжесть ХСН.

При изучении спектра фармакологической активности соединения АЛМ-802 показано, что, помимо кардиопротективной активности, соединение обладает анксиолитическим, анальгетическим и актопротекторным действием.

Все вышесказанное позволяет заключить, что в настоящем исследовании полностью реализованы стоящие перед ним задачи, а именно:

- Проведён скрининг кардиотропной активности ряду линейных и циклических алкоксифенилаалканов и выявлено соединение-лидер – N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ-802);
- В сравнительном аспекте оценена целевая активность соединения – лидера и эталонных лекарственных средств, показано, что по своей антиаритмической и антиишемической активности соединение АЛМ-802, как минимум, не уступает эталонным препаратам;
- Изучены электрофизиологические и молекулярные механизмы, лежащие в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802;
- Изучен спектр фармакологической активности соединения АЛМ-802.

Таким образом, результаты систематического доклинического фармакологического изучения спектра и механизмов кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 могут составить основу досье на получение разрешения на проведения 1-ой фазы его клинических испытаний.

ВЫВОДЫ

1. В результате скрининга кардиотропной активности в ряду линейных и циклических алкоксифенилазаланов выявлено соединение-лидер – N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ-802).
2. На моделях аконитиновой, хлоридкальциевой, хлоридбариевой и реперфузионных аритмий соединение АЛМ-802 (1-2 мг/кг, в/в) проявляет выраженную антиаритмическую активность, по которой не уступает эталонным препаратам (прокаинамид 20 мг/кг, в/в, верапамил 1 мг/кг, в/в и амиодарон 10 мг/кг, в/в).
3. На модели субэндокардиальной аритмии соединение АЛМ-802 (2 мг/кг, в/в) проявляет выраженную антиишемическую активность, по которой не уступает эталонному препарату верапамил (1 мг/кг, в/в) и превосходит рФОХ-ингибиторы триметазидин (30 мг/кг, в/в) и ранолазин (10 мг/кг, в/в).
4. На трансляционной модели постинфарктной сердечной недостаточности курсовая терапия соединением АЛМ-802 (2 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней), в значительной мере восстанавливает инотропную функцию левого желудочка сердца и уменьшает его размеры.
5. В экспериментах *in vitro* показано, что соединение АЛМ-802 блокирует трансмембранные потенциалзависимые ионные Na⁺- и K⁺-каналы, а также RyR2.
6. Молекулярные исследования механизмов кардипротективного действия соединения АЛМ-802 показали, что в результате курсовой терапии соединением (2 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней) на мембране кардиомиоцитов восстанавливается уровень экспрессии генов для β₁- и β₂-ARs, а в цитозоле кардиомиоцитов – уровень экспрессии генов для IP3R2 и RyR2.
7. При изучении спектра фармакологической активности соединения АЛМ-802 показано, что помимо кардипротективной активности соединение обладает анксиолитическим, анальгетическим и актопротектерным действием.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

- АДФ** – аденозиндифосфат.
АПФ – ангиотензин-превращающий фермент.
АТФ – аденозинтрифосфат.
ВСР – вариабельность сердечного ритма.
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.
ЗР – закрытые рукава лабиринта.
ИМ – инфаркта миокарда.
КДО – конечно-диастолический объем.
КДР – конечно-диастолический.
КоА – кофермент-А;
КСО – конечно-систолический объем.
КСР – конечно-систолический размер.
ЛПВП – липопротеины высокой плотности.
ЛПНП – липопротеины низкой плотности.
ЛПРТС – латентный период реакции при термической стимуляции.
МАМ – мембраны, ассоциированные с митохондриями.
МВЭ – максимально возможный эффект.
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота.
- 3-КАТ** – 3-кетоацил-КоА-тиолазы.
4 НЕРЕС – 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота.
4-ННЕ – 4-гидрокси-2-ноненаль.
5'-АМПК – 5' аденозинмонофосфат-активированная протеинкиназа.
 α КГ – α -кетоглутарат.
 β Ох – β -окисление.
 β -ОНВ – β -гидроксибутират.
АС – аденилилциклаза.
АСС – ацетил-КоА карбоксилаза.
АСЛ – АТФ цитратлиаза.
АСЛУ – АТФ-цитрат-лиаза.
ADMA – асимметричный диметиларгин.
- НАДН** – никотинамидадениндинуклеотид.
ОДА – общая двигательная активность.
ОР – открытые рукава лабиринта.
ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт.
ПЦР – полимеразная цепная реакция.
СЖК – свободные жирные кислоты.
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.
ФАДН₂ – восстановленный флавинадениндинуклеотид.
ФВ – фракция выброса.
ФИ – фракция изгнания.
ФУ – фракция укорочения.
ХСН – хроническая сердечная недостаточность.
ЦПЭ – цепь переноса электронов.
ЧСС – частота сердечных сокращений.
ЭД – эндотелиальная дисфункция.
ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭКГ – электрокардиограмма.
- Akt** – протеинкиназа В (синоним РКВ).
АМР – аденозинмонофосфат.
АНТ – транслоказа адениннуклеотидов (транслоказа АДФ/АТФ).
AR – адренергические рецепторы.
BALB/c – штамм линейных инбредных мышей.
ВСАА – аминокислоты с разветвленной цепью.
BCATm – митохондриальная аминотрансфераза аминокислот с разветвленной цепью (синоним BCAT2).
ВСКА – α -кетокислоты с разветвленной цепью.

- BDH1** – β-гидроксибутиратдегидрогеназа-1.
- C57BL/6** – штамм линейных инбредных мышей.
- CaMKII** – Ca²⁺/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II.
- cAMP** – циклический аденозинмонофосфат.
- CAT** – карнитин-ацилкарнитин-транслоказа.
- CD36** – 36-ой кластер дифференцировки (синоним – FAT).
- CIcR** – индуцированное Ca²⁺ высвобождение Ca²⁺ (Ca²⁺-induced Ca²⁺ release).
- CK** – креатинкиназа;
- CoQ10** – коэнзим Q10;
- CPT** – карнитинпальмитоилтрансфераза.
- Cr** – креатин.
- DCA** – дихлорацетат.
- DPP4** – дипептидилпептидаза 4.
- ED** – эффективная доза.
- EGTA** – этиленгликоль-бис (β-аминоэтиловый эфир)-N, N, N', N'-тетрауксусная кислота (синоним эгтазиновая кислота).
- eNOS** – эндотелиальная NO-синтаза.
- Ерас** – регуляторный белок, фактор обмена гуаниновых нуклеотидов, непосредственно активируемый циклическим аденозинмонофосфатом.
- ЕТС** – цепь переноса электронов.
- F1/F0** – белковые комплексы образующие АТФ синтазу.
- FA CoA** – жирный ацил-КоА эфир.
- FAD** – флавинаденидинуклеотид.
- FAS** – синтаза жирных кислот.
- FAT** – транслоказа жирных кислот (синоним – CD36).
- FATP1** – транспортный белок-1 жирных кислот.
- FKBP12.6** – пептидил-пролилцис-транс-изомераза.
- Fru-6-P** – фруктозо-6-фосфат.
- G6P** – глюкозо-6-фосфат (синоним Glc-6-P).
- GBBH** – гамма-бутиробетаиндиоксигеназа.
- GIK** – глюкоза-инсулин-калиевая смесь.
- GLUT** – переносчик глюкозы (glucose transporter).
- GPX** – глутатионпероксидаза.
- G_{β,γ,іs}** – мембранно-связанные гетеротримерные белки ассоциированные с рецептором.
- GTP** – гуанозин-5'-трифосфат.
- H-FABP** – белок сердечного типа, связывающий жирные кислоты.
- HK** – гексокиназа
- IDH2** – митохондриальная изоцитратдегидрогеназа.
- INaL** – ионный канал позднего Na⁺ тока.
- IP3** – инозитолтрифосфат.
- IP3R** – инозитолтрифосфатный рецептор.
- IRS-1** – инсулиновый рецептор-1.
- KIC** – кетоизокапроат.
- KIV** – кетоизовалерат.
- KMV** – 2-кето-3-метилвалерат.
- LCFA** – длинноцепочечные жирные кислоты.
- LD_{16,50,84}** – летальная доза (вызывающая гибель 16, 50 и 84% животных).
- LDH** – лактатдегидрогеназа.
- L-NMMA** – L-N-мометиларгинин.
- LTCC** – медленные трансмембранные потенциалзависимые ионные Ca²⁺ каналы.
- MCAD** – среднецепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа.
- MCD** – малонил-КоА-декарбоксилаза.
- MCT4** – переносчик монокарбоксилатов.
- MCU** – митохондриальный белок-унипортер Ca²⁺.
- MFN** – митофузин.

MPC – митохондриальный переносчик пирувата.

mPTP – Ca^{2+} -зависимая неспецифическая митохондриальная пора.

mROS – активные формы кислорода.

mTOR – мишень рапамицина у млекопитающих.

NAD⁺ – никотинамид-аденин-динуклеотид/

NADH – никотинамид-аденин-динуклеотид-гидрид.

NADP – никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат.

NCLX – митохондриальный $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ белок-обменник.

NFAT – ядерный фактор активированных T клеток.

NHE1 – Na^+/H^+ обменник 1.

NKA – Na^+/K^+ АТФаза.

NNT – митохондриальная НАД(Ф) трансгидрогеназа.

NOX2 – NADPH-оксидаза 2.

NT-pro BNP – N-концевой пропептид натрийуретического гормона.

OCTN2 – органический транспортер карнитина 2.

PC – пальмитоил-карнитин.

PCr – фосфокреатин;

PDH – пируватдегидрогеназа.

PDK – киназа пируватдегидрогеназы.

PFK – 6-фосфофрукто-1-киназа.

pFOX-ингибиторы – парциальные ингибиторы окисления жирных кислот (partial fatty acid oxidation inhibitors).

PGC-1 α – коактиватор гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом 1- α .

Pi – неорганический фосфат.

PI3K – фосфоинозитид-3-киназа.

PIP2 – фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат.

PKA – протеинкиназа А.

PKB – протеинкиназа В (синоним Akt).

PKC – протеинкиназа С.

PLC – фосфолипаза С.

PMCA – кальциевый насос плазматической мембраны (plasma membrane calcium ATPase).

PP2A – протеинфосфатаза 2А.

PPAR – рецептор, активируемый пролифератором пероксисом.

PPP – пентозофосфатный путь.

PRX-TRX – система пероксиредоксин-тиоредоксин.

RA-GLP 1 – агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида 1.

Rap2B – связанный с Ras белок.

Ras – Rap GTP-связывающий белок (семейство Ras белков).

RIRR – АФК-индуцированный выход АФК (ROS-induced ROS releas)

ROS – активные формы кислорода.

RyR2 – рианодиновый рецептор 2 типа.

SERCA – Ca^{2+} АТФаза саркоплазматического ретикулума.

SGLT2 – ингибитор ко-транспортера натрия/глюкозы 2.

SIRT – сиртуины.

SOD [Mn] – митохондриальная супероксиддис-мутаза [Mn].

SR – саркоплазматический ретикулум.

TAG – триацилглицерин.

TCA – трикарбоновая кислота.

UCP – митохондриальный разобщающий белок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безверхов, А. А. Динамика смертности от сердечно-сосудистых заболеваний за период 2015-2019 гг. / А.А. Безверхов, О.Ю. Ищенко // *Norwegian Journal of Development of the International Science*. – 2021. – Т. 54, № 2. – С. 35-38. – DOI 10.24412/3453-9875-2021-54-2-35-38.
2. Бизенкова, М.Н. Сравнительная оценка энергообеспечения миокарда в норме и в динамике экспериментальной острой ишемии / М.Н. Бизенкова, Н.П. Чеснокова, М.Г. Романцов // *Современные наукоемкие технологии*. – 2006. – № 1. – С. 21-27
3. Вельков, В. В. Новые возможности для ранней диагностики инсулинорезистентности и мониторинга тяжести ишемии: свободные жирные кислоты / В.В. Вельков // *Медицинский алфавит*. – 2010. – Т. 4, № 20. – С. 28-31. – EDN NYAESZ.
4. Волошин, Н.А. Клиническое применение тиотриазолина для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы [Электронный ресурс] / Н.А. Волошин, В.А. Визир, И.Н. Волошина // *Новости медицины и фармации*. – 2007. Т. 228, № 20. – URL <http://www.mif-ua.com/archive/article/3103/> [дата обращения 23.01.2023].
5. Воронина, Т. А. Мексидол: спектр фармакологических эффектов / Т. А. Воронина // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. – 2012. – Т. 112, № 12. – С. 86-90. – EDN PTUPBT.
6. Галенко-Ярошевский, П.А. Методические указания по экспериментальному изучению новых антиаритмических веществ / П.А. Галенко-Ярошевский, Н.В. Каверина, А.Г. Камкин [и др.] // *Антиаритмические средства: фармакотерапевтические аспекты, методы поиска и доклинического изучения*. – Краснодар : Просвещение-Юг, 2012. – С. 355-400. – EDN YNQJPX.
7. Гордеев, И. Г. Коррекция дисфункции миокарда у больных стабильной стенокардией, подвергшихся коронарной реваскуляризации, на фоне приема цитопротектора милдроната / И. Г. Гордеев, Е. Е. Лучинкина, С. В. Хегай // *Российский кардиологический журнал*. – 2009. – Т. 14, № 2. – С. 54-58. – EDN ККРАJP.
8. Демидова, Т. Ю. Агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1: безграничный потенциал применения / Т. Ю. Демидова, А. А. Кожевников // *Доктор.Ру*. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 6-12. – DOI 10.31550/1727-2378-2020-19-2-6-12.
9. Зверев, А. А. Роль АТФ и пуринорецепторов в сократимости миокарда крыс в раннем постнатальном онтогенезе : специальность 03.00.13 : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Зверев Алексей Анатольевич. – Казань, 2008. – 141 с. – EDN NQGATP.

10. Здравоохранение в России. 2019: Стат.сб. / под ред. И.Н. Шаповал, С.Ю. Никитина – Москва : Росстат, 2019. – 170 с. – ISBN 978-5-89476-470-2.
11. Каверина, Н.В. Методические указания по изучению антиаритмической активности фармакологических веществ / Н. В. Каверина, С.Ю. Бердяев, Е.П. Кищук; О.Е. Пасхина // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – Москва : Медицина, 2005. – С. 421-437 – ISBN 5-225-04219-8.
12. Кадин, Д.В. Тиотриазолин в комплексной терапии стабильной стенокардии напряжения II-III функционального класса / Д. В. Кадин, Б. А. Чумак, А. Е. Филиппов, С. Б. Шустов // Кардиология. – 2015. – Т. 55, № 8. – С. 26-29. – DOI 10.18565/cardio.2015.8.26-29.
13. Кардиология. Национальное руководство : Краткое издание / С. Н. Авдеев, В. Ф. Агафонов, Р. С. Акчурин [и др.] ; Подготовлено под эгидой Всероссийского научного общества кардиологов и Ассоциации медицинских обществ по качеству. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 848 с. – ISBN 978-5-9704-2733-0.
14. Кардиотропное средство с анксиолитическими и анальгетическими свойствами : Патент № 2773018 С2 Российская Федерация, МПК А61К 31/015, А61К 31/137, А61Р 29/02. № 2020122351 : заявл. 06.07.2020 : опубл. 30.05.2022 / Л. Г. Колик, А. В. Надорова, И. Б. Цорин [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова". – EDN OFTLZS.
15. Кожевникова, Л.М. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 / Л.М. Кожевникова, В.В. Барчуков, Н.П. Семенова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 9. – С. 301-305. – DOI 10.47056/0365-9615-2020-170-9-301-305.
16. Колик, Л.Г. Анксиолитические свойства триметазидина на экспериментальных моделях повышенной тревожности / Л. Г. Колик, А. В. Надорова, В. Н. Столярук [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162, № 11. – С. 593-597. – DOI 10.1007/s10517-017-3677-2
17. Колик, Л.Г. Экспериментальная оценка анксиолитических и анальгетических свойств нового производного линейных метоксифенилтриазаалканов с кардиотропной активностью / Л. Г. Колик, А. В. Надорова, И. Б. Цорин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 12. – С. 752-758. – DOI 10.47056/0365-9615-2020-170-12-752-758.
18. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс / С. А. Крыжановский, И. Б. Цорин, Е. О. Ионова [и др.] // Патологическая физиология

- и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62, № 2. – С. 136-148. – DOI 10.25557/0031-2991.2018.02.136-148.
19. Михин, В. П. Кардиоцитопротекторы - новое направление клинической кардиологии / В. П. Михин // Архивъ внутренней медицины. – 2011. – № 1. – С. 21-28. – EDN RPELQV.
 20. Наумов, А.П. Изменение сродства кислотной группы натриевого канала к ионам водорода при действии аконитина / А.П. Наумов, Ю.А. Негуляев, Е.Д. Носырева // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 244, № 1. – С. 229–232. – PMID 33018.
 21. Нормализация метаболизма мембранных фосфолипидов в ишемизированном миокарде как возможный компонент механизма действия лекарственных средств / М.Б. Вититнова, В.Г. Качарава, С.А. Крыжановский, Н.В. Каверина // «Неотон» современное состояние проблемы : материалы международного симпозиума, Ленинград 1990. – С. 4.
 22. Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств. Методические указания. МУ 1.2.1105-02 : Приложение 3. Классификация токсичности веществ при введении под кожу и в брюшную полость животного (по К.К. Сидорову) // Дезинфекционное дело. – 2002. – № 3. – С. 52-66. – EDN JWZFNВ.
 23. Расин, М. С. Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом, и их коактиватор PGC-1 α в физиологии и патологии миокарда / М.С. Расин // Российский кардиологический журнал. – 2014. – Т. 19, № 11. – С. 88-92. – DOI 10.15829/1560-4071-2014-11-88-92.
 24. Рощевский, М.П. Система "Кардиоинформ" для визуализации и анализа электрического поля сердца / М.П. Рощевский, Н.В. Артеева, Н.Л. Коломеец [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2005. – Т. 5, № 3. – С. 74-79. – EDN QBANEZ.
 25. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятяна, А.Н. Васильева [и др.] – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1466-3.
 26. Сакс, В.А. Функциональные характеристики креатинфосфокиназных реакций связанных с миофибриллами сердца / В.А. Сакс, Н.В. Липина, Н.В. Люлина [и др.] // Биохимия. – 1976. – Т. 41, № 8. – С. 1460-1470.
 27. Сергиенко, И. В. Назначение ингибиторов натрий-глюкозного котранспортёра 2 типа (иНГЛТ-2) и агонистов рецепторов глюкагонподобного пептида-1 (арГПП-1) у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза в клинической практике / И. В. Сергиенко, С. А. Бойцов, П. К. Резинкина [и др.]// Атеросклероз и дислипидемии. – 2021. – Т. 42, № 1. – С. 21-29. – DOI 10.34687/2219-8202.JAD.2021.01.0002.

28. Смирнова, С.Л. Деполяризация предсердий у крыс с алкогольной кардиомиопатией / С.Л. Смирнова, И.М. Рощевская, М.П. Рощевский [и др.] // Доклады Академии наук. – 2018. – Т. 479, № 1. – С. 96-98. – DOI 10.7868/S0869565218010231.
29. Снежицкий, В.А. Вариабельность ритма сердца применение в кардиологии / В.А. Снежицкий, В.И. Шишко, Е.В. Зуховицкая. – Гродно : ГрГМУ, 2010 – 212 с. – ISBN 978-985-496-630-4.
30. Сон, И.М. Тенденции показателей заболеваемости и больничной летальности от болезней системы кровообращения на фоне новой коронавирусной инфекции COVID-19 / И. М. Сон, В. И. Стародубов, Е. М. Маношкина, В.С. Ступак // Профилактическая медицина. – 2021. – Т. 24, № 11. – С. 7-14. – DOI 10.17116/profmed2021241117.
31. Способ моделирования гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции : Патент № 2414755 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. № 2009138639/14 : заявл. 19.10.2009 : опубл. 20.03.2011 / С. Г. Емельянов, М. В. Корокин, М. В. Покровский [и др.] ; заявитель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Юго-Западный государственный университет" (ЮЗГУ). – EDN XYZHIM.
32. Стаценко, М. Е. Нерешенные вопросы цитопротективной терапии у пациентов с ишемической болезнью сердца / М. Е. Стаценко, С. В. Туркина, А. А. Ермоленко // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87, № 12. – С. 101-106. – DOI 10.17116/terarkh20158712101-106.
33. Таранцова, А.В. Эффективность препаратов на основе этилметилгидроксипиридина сукцината: обзор литературы и личный опыт / А.В. Таранцова // Фарматека. – 2018. – Т. 358, № 5. – С. 16-25. – DOI 10.18565/pharmateca.2018.5.16-25.
34. Титов, В. Н. Функция митохондрий, карнитин, коэнзим-А, жирные кислоты, глюкоза, цикл Рендла и инсулин (лекция) / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 2. – С. 32-42.
35. Топчий, Н. В. Возможности применения Тиотриазолина в качестве средства метаболической терапии / Н. В. Топчий, А. С. Топорков // Русский Медицинский Журнал. – 2015. – Т. 23, № 15. – С. 890-894. – EDN UDXSTV.
36. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности способ и критерии оценки формирования : Патент № 2744681 С1 Российская Федерация № 2018126602 : заявл. 19.07.2018 : опубл. 15.03.2021 / С. А. Крыжановский, И. Б. Цорин, Е. О. Ионова [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова". – EDN NEQRWZ.

37. Цорин, И.Б. Кардиопротекторные эффекты соединения АЛМ-802 на моделях субэндокардиальной ишемии / И. Б. Цорин, В. В. Барчуков, М. Б. Вититнова [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 1. – С. 18-22. – DOI 10.37489/2587-7836-2021-1-18-22.
38. Цорин, И.Б. Механизмы антиаритмического действия соединения АЛМ-802 / И.Б. Цорин, И.Ю. Теплов, В.П. Зинченко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 174, № 8. – С. 179-183. – DOI 10.47056/0365-9615-2022-174-8-179-183.
39. Чуканова, Е.И. Мексидол в терапии недостаточности мозгового кровообращения [Электронный ресурс] / Е.И. Чуканова // Медицинский вестник. – 2009. – № 25-26. – URL <https://medi.ru/info/7530/> [дата обращения 23.01.2023].
40. Яблучанский, Н.И. Вариабельность сердечного ритма в помощь практическому врачу / Н.И. Яблучанский, А.В. Мартыненко – Харьков: Для настоящих врачей, 2010. – 131 с.
41. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology // European Heart Journal. – 2013. – Vol. 34, № 38. – P. 2949–3003. – DOI 10.1093/eurheartj/ehz296.
42. Abdel-Salam, O.M.E. Pharmacological investigation of trimetazidine in models of inflammation, pain and gastric injury in rodents / O.M.E. Abdel-Salam, S. El-Batran // Pharmacology. – 2005. – Vol. 75, № 3. – P. 122–132. – DOI 10.1159/000088211.
43. Abel, E.D. Cardiac hypertrophy with preserved contractile function after selective deletion of GLUT4 from the heart / E.D. Abel, H.C. Kaulbach, R. Tian [et al.] // The Journal of Clinical Investigation. – 1999. – Vol. 104, № 12. – P. 1703–1714. – DOI 10.1172/JCI7605.
44. Abozguia, K. The heart metabolism: pathophysiological aspects in ischaemia and heart failure / K. Abozguia, G. Shivu, I. Ahmed [et al.] // Current Pharmaceutical Design. – 2009. – Vol. 15, № 8. – P. 827–835. – DOI 10.2174/138161209787582101.
45. Ajabnoor, A. Effect of trimetazidine on the functional capacity of ischemic heart disease patients not suitable for revascularization: Meta-analysis of randomized controlled trials / A. Ajabnoor, A. Mukhtar // PLoS ONE. – 2022. – Vol. 17, № 2. – P. e0263932. – DOI 10.1371/journal.pone.0263932.
46. Aksentijevic, D. Is there a causal link between intracellular Na elevation and metabolic remodelling in cardiac hypertrophy? / D. Aksentijevic, B.A. O'Brien, T.R. Eykyn, M.J. Shattock // Biochemical Society Transactions. – 2018. – Vol. 46, № 4. – P. 817–827. – DOI 10.1042/BST20170508.
47. Al Jobori, H. Determinants of the increase in ketone concentration during SGLT2 inhibition in NGT, IFG and T2DM patients / H. Al Jobori, G. Daniele, J. Adams [et al.] // Diabetes, Obesity and Metabolism. – 2017. – Vol. 19, № 6. – P. 809–813. – DOI 10.1111/dom.12881.

48. Al Saadi, T. Coenzyme Q10 for heart failure / T. Al Saadi, Y. Assaf, M. Farwati [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2021. – Vol. 2021, № 2. – P. CD008684. – DOI 10.1002/14651858.CD008684.pub3.
49. Ali, D.C. β -Adrenergic receptor, an essential target in cardiovascular diseases / D.C. Ali, M. Naveed, A. Gordon [et al.] // *Heart Failure Reviews*. – 2020. – Vol. 25, № 2. – P. 343–354. – DOI 10.1007/s10741-019-09825-x.
50. Ananthakrishna, R. Randomized controlled trial of perhexiline on regression of left ventricular hypertrophy in patients with symptomatic hypertrophic cardiomyopathy (RESOLVE-HCM trial) / R. Ananthakrishna, S.L. Lee, J. Foote [et al.] // *American Heart Journal*. – 2021. – Vol. 240, P. 101–113. – DOI 10.1016/j.ahj.2021.06.010.
51. Anzai, K. Oxidative modification of ion channel activity of ryanodine receptor / K. Anzai, K. Ogawa, T. Ozawa, H. Yamamoto // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 35–40. – DOI 10.1089/ars.2000.2.1-35.
52. Aubert, G. The failing heart relies on ketone bodies as a fuel / G. Aubert, O.J. Martin, J.L. Horton [et al.] // *Circulation*. – 2016. – Vol. 133, № 8. – P. 698–705. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017355.
53. Awad, K. Coenzyme Q10 reduces infarct size in animal models of myocardial ischemia-reperfusion injury: a meta-analysis and summary of underlying mechanisms / K. Awad, A. Sayed, M. Banach // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – Vol. 9, P. 857364. – DOI 10.3389/fcvm.2022.857364.
54. Babick, A.P. Role of subcellular remodeling in cardiac dysfunction due to congestive heart failure / A.P. Babick, N.S. Dhalla // *Medical Principles and Practice*. – 2007. – Vol. 16, № 2. – P. 81–89. – DOI 10.1159/000098358.
55. Bagheri, F. Reactive oxygen species-mediated cardiac-reperfusion injury: Mechanisms and therapies / F. Bagheri, V. Khorram, A.M. Alizadeh [et al.] // *Life Sciences*. – 2016. – Vol. 165, P. 43–55. – DOI 10.1016/j.lfs.2016.09.013.
56. Bakker, S.J.L. Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and β -cell failure? / S.J.L. Bakker, R.G.I. Jzerman, T. Teerlink [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2000. – Vol. 148, № 1. – P. 17–21. – DOI 10.1016/S0021-9150(99)00329-9.
57. Barclay, M.L. Correlation of CYP2D6 genotype with perhexiline phenotypic metabolizer status: / M.L. Barclay, S.M. Sawyers, E.J. Begg [et al.] // *Pharmacogenetics*. – 2003. – Vol. 13, № 10. – P. 627–632. – DOI 10.1097/00008571-200310000-00006.
58. Barlaka, E. Activation of PPAR β/δ protects cardiac myocytes from oxidative stress-induced apoptosis by suppressing generation of reactive oxygen/nitrogen species and expression of matrix

- metalloproteinases / E. Barlaka, A. Görbe, R. Gáspár [et al.] // *Pharmacological Research*. – 2015. – Vol. 95–96, P. 102–110. – DOI 10.1016/j.phrs.2015.03.008.
59. Bauer, T.M. Role of mitochondrial calcium and the permeability transition pore in regulating cell death / T.M. Bauer, E. Murphy // *Circulation Research*. – 2020. – Vol. 126, № 2. – P. 280–293. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.119.316306.
60. Becerra, R. Reversible redox modifications of ryanodine receptor ameliorate ventricular arrhythmias in the ischemic-reperfused heart / R. Becerra, B. Román, M.N. Di Carlo [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2016. – Vol. 311, № 3. – P. h713–724. – DOI 10.1152/ajpheart.00142.2016.
61. Benitah, J.-P. RyR2 and calcium release in heart failure / J.-P. Benitah, R. Perrier, J.-J. Mercadier [et al.] // *Frontiers in Physiology*. – 2021. – Vol. 12, P. 734210. – DOI 10.3389/fphys.2021.734210.
62. Bers, D.M. Cardiac excitation–contraction coupling / D.M. Bers // *Nature*. – 2002. – Vol. 415, № 6868. – P. 198–205. – DOI 10.1038/415198a.
63. Bersin, R.M. Improved hemodynamic function and mechanical efficiency in congestive heart failure with sodium dichloroacetate / R.M. Bersin, C. Wolfe, M. Kwasman [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1994. – Vol. 23, № 7. – P. 1617–1624. – DOI 10.1016/0735-1097(94)90665-3.
64. Bertero, E. Metabolic remodelling in heart failure / E. Bertero, C. Maack // *Nature Reviews Cardiology* – 2018. – Vol. 15, № 8 – P. 457–470. – DOI 10.1038/s41569-018-0044-6.
65. Betzenhauser, M.J. Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors by phosphorylation and adenine nucleotides / M.J. Betzenhauser, D.I. Yule // *Current Topics in Membranes*. – 2010. – Vol. 66, P. 273–298. – DOI 10.1016/S1063-5823(10)66012-7.
66. Bezprozvanny, I. Bell-shaped calcium-response curves of Ins(1,4,5)P₃- and calcium-gated channels from endoplasmic reticulum of cerebellum / I. Bezprozvanny, J. Watras, B.E. Ehrlich // *Nature*. – 1991. – Vol. 351, № 6329. – P. 751–754. – DOI 10.1038/351751a0.
67. Bhandari, B. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation inhibitor, its potential benefit in angina and other cardiovascular disorders / B. Bhandari, L. Subramanian // *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery*. – 2007. – Vol. 2, № 1. – P. 35–39. – DOI 10.2174/157489007779606095.
68. Bilsen, M. “Energenetics” of heart failure / M. Bilsen // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 1015, № 1 – P. 238–249. – DOI 10.1196/annals.1302.020.
69. Bing, R.J. The metabolism of the heart / R.J. Bing // *Transactions. American College of Cardiology*. – 1955. – Vol. 5, P. 8–14.
70. Bond, J.M. Intracellular pH and Ca²⁺ homeostasis in the pH paradox of reperfusion injury to neonatal rat cardiac myocytes / J.M. Bond, E. Chacon, B. Herman, J.J. Lemasters // *American*

- Journal of Physiology-Cell Physiology. – 1993. – Vol. 265, № 1. – P. C129–C137. – DOI 10.1152/ajpcell.1993.265.1.C129.
71. Brillantes, A.-M.B. Stabilization of calcium release channel (ryanodine receptor) function by FK506-binding protein / A.-M.B. Brillantes, K. Ondrias, A. Scott [et al.] // *Cell*. – 1994. – Vol. 77, № 4. – P. 513–523. – DOI 10.1016/0092-8674(94)90214-3.
 72. Bristow, M.R. Beta 1- and beta 2-adrenergic receptor-mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium / M.R. Bristow, R.E. Hershberger, J.D. Port [et al.] // *Molecular Pharmacology*. – 1989. – Vol. 35, № 3. – P. 295–303. – PMID 2564629.
 73. Brodde, O.-E. Myocardial beta-adrenoceptor changes in heart failure: concomitant reduction in beta₁- and beta₂-adrenoceptor function related to the degree of heart failure in patients with mitral valve disease / O.-E. Brodde, H.-R. Zerkowski, N. Doetsch [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1989. – Vol. 14, № 2. – P. 323–331. – DOI 10.1016/0735-1097(89)90181-2.
 74. Brookes, P.S. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle / P.S. Brookes, Y. Yoon, J.L. Robotham [et al.] // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 2004. – Vol. 287, № 4. – P. C817–C833. – DOI 10.1152/ajpcell.00139.2004.
 75. Brooks, G.A. The science and translation of lactate shuttle theory / G.A. Brooks // *Cell Metabolism*. – 2018. – Vol. 27, № 4. – P. 757–785. – DOI 10.1016/j.cmet.2018.03.008.
 76. Camors, E. CaMKII regulation of cardiac ryanodine receptors and inositol triphosphate receptors / E. Camors, H.H. Valdivia // *Frontiers in Pharmacology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 101. – DOI 10.3389/fphar.2014.00101.
 77. Cappola, T.P. Perhexiline: lessons for heart failure therapeutics / T.P. Cappola // *JACC: Heart Failure*. – 2015. – Vol. 3, № 3. – P. 212–213. – DOI 10.1016/j.jchf.2014.12.005.
 78. Carafoli, E. Generation, control, and processing of cellular calcium signals / E. Carafoli, L. Santella, D. Branca, M. Brini // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 36, № 2. – P. 107–260. – DOI 10.1080/20014091074183.
 79. Cárdenas, C. Selective vulnerability of cancer cells by inhibition of Ca²⁺ transfer from endoplasmic reticulum to mitochondria / C. Cárdenas, M. Müller, A. McNeal [et al.] // *Cell Reports*. – 2016. – Vol. 14, № 10. – P. 2313–2324. – DOI 10.1016/j.celrep.2016.02.030.
 80. Chen, W.-R. Effects of liraglutide on left ventricular function in patients with non-ST-segment elevation myocardial infarction / W.-R. Chen, X.-Q. Shen, Y. Zhang [et al.] // *Endocrine*. – 2016. – Vol. 52, № 3. – P. 516–526. – DOI 10.1007/s12020-015-0798-0.
 81. Chen, Y.-J. Lactate metabolism is associated with mammalian mitochondria / Y.-J. Chen, N.G. Mahieu, X. Huang [et al.] // *Nature Chemical Biology*. – 2016. – Vol. 12, № 11. – P. 937–943. – DOI 10.1038/nchembio.2172.

82. Ciapaite, J. Modular kinetic analysis of the adenine nucleotide translocator–mediated effects of palmitoyl-CoA on the oxidative phosphorylation in isolated rat liver mitochondria / J. Ciapaite, G. van Eikenhorst, S.J.L. Bakker [et al.] // *Diabetes*. – 2005. – Vol. 54, № 4. – P. 944–951. – DOI 10.2337/diabetes.54.4.944.
83. Cotter, D.G. Ketone body metabolism and cardiovascular disease / D.G. Cotter, R.C. Schugar, P.A. Crawford // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2013. – Vol. 304, № 8. – P. H1060–H1076. – DOI 10.1152/ajpheart.00646.2012.
84. Cutler, M.J. Cardiac electrical remodeling in health and disease / M.J. Cutler, D. Jeyaraj, D.S. Rosenbaum // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2011. – Vol. 32, № 3. – P. 174–180. – DOI 10.1016/j.tips.2010.12.001.
85. Cyr, A.R. Nitric oxide and endothelial dysfunction / A.R. Cyr, L.V. Huckaby, S.S. Shiva, B.S. Zuckerbraun // *Critical Care Clinics*. – 2020. – Vol. 36, № 2. – P. 307–321. – DOI 10.1016/j.ccc.2019.12.009.
86. Dai, C. Lactate dehydrogenase a governs cardiac hypertrophic growth in response to hemodynamic stress / C. Dai, Q. Li, H.I. May [et al.] // *Cell Reports*. – 2020. – Vol. 32, № 9. – P. 108087. – DOI 10.1016/j.celrep.2020.108087.
87. Davenport, A.P. Endothelin / A.P. Davenport, J.J. Maguire // *Handbook of experimental pharmacology*. – 2006. – № 176, Pt 1. – P. 295–329. – DOI 10.1007/3-540-32967-6_9.
88. Davey, K.A.B. Immunogold labeling study of the distribution of GLUT-1 and GLUT-4 in cardiac tissue following stimulation by insulin or ischemia / K.A.B. Davey, P.B. Garlick, A. Warley, R. Southworth // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2007. – Vol. 292, № 4. – P. H2009–H2019. – DOI 10.1152/ajpheart.00663.2006.
89. Dávila-Román, V.G. Altered myocardial fatty acid and glucose metabolism in idiopathic dilated cardiomyopathy / V.G. Dávila-Román, G. Vedala, P. Herrero [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2002. – Vol. 40, № 2. – P. 271–277. – DOI 10.1016/S0735-1097(02)01967-8.
90. De Rooij, J. Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP / J. De Rooij, F.J.T. Zwartkruis, M.H.G. Verheijen [et al.] // *Nature*. – 1998. – Vol. 396, № 6710. – P. 474–477. – DOI 10.1038/24884.
91. De Vecchis, R. Antiarrhythmic effects of ranolazine used both alone for prevention of atrial fibrillation and as an add-on to intravenous amiodarone for its pharmacological cardioversion: a meta-analysis / R. De Vecchis, C. Ariano, A. Giasi, C. Cioppa // *Minerva Cardioangiologica*. – 2018. – Vol. 66, № 3. – P. 349–359. – DOI 10.23736/S0026-4725.17.04349-3.
92. Delaunay, M. The role of cyclic AMP signaling in cardiac fibrosis / M. Delaunay, H. Osman, S. Kaiser, D. Diviani // *Cells*. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 69. – DOI 10.3390/cells9010069.

93. Dhalla, A.K. Ranolazine, an antianginal agent, markedly reduces ventricular arrhythmias induced by ischemia and ischemia-reperfusion / A.K. Dhalla, W.-Q. Wang, J. Dow [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2009. – Vol. 297, № 5. – P. H1923–H1929. – DOI 10.1152/ajpheart.00173.2009.
94. Dhalla, N.S. Subcellular remodeling as a viable target for the treatment of congestive heart failure / N.S. Dhalla, M.R. Dent, P.S. Tappia [et al.] // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. – 2006. – Vol. 11, № 1. – P. 31–45. – DOI 10.1177/107424840601100103.
95. Dhote, V. Anti-oxidant activity mediated neuroprotective potential of trimetazidine on focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats / V. Dhote, R. Balaraman // *Clinical and Experimental Pharmacology&Physiology*. – 2008. – Vol. 35, № 5–6. – P. 630–637. – DOI 10.1111/j.1440-1681.2008.04845.x.
96. Dimou, A. The critical role of the branched chain amino acids (BCAAs) catabolism-regulating enzymes, branched-chain aminotransferase (BCAT) and branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKD), in human pathophysiology / A. Dimou, V. Tsimihodimos, E. Bairaktari // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 7. – P. 4022. – DOI 10.3390/ijms23074022.
97. Doenst, T. Cardiac metabolism in heart failure: implications beyond ATP production / T. Doenst, T.D. Nguyen, E.D. Abel // *Circulation Research*. – 2013. – Vol. 113, № 6. – P. 709–724. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.113.300376.
98. Donato, A.J. Cellular and molecular biology of aging endothelial cells / A.J. Donato, R.G. Morgan, A.E. Walker, L.A. Lesniewski // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2015. – Vol. 89, № Pt B. – P. 122–135. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2015.01.021.
99. Dong, Y. Nitrate stress participates in endothelial progenitor cell injury in hyperhomocysteinemia / Y. Dong, Q. Sun, T. Liu [et al.] // *PloS One*. – 2016. – Vol. 11, № 7. – P. e0158672. – DOI 10.1371/journal.pone.0158672.
100. Dridi, H. Intracellular calcium leak in heart failure and atrial fibrillation: a unifying mechanism and therapeutic target / H. Dridi, A. Kushnir, R. Zalk [et al.] // *Nature Reviews Cardiology*. – 2020. – Vol. 17, № 11. – P. 732–747. – DOI 10.1038/s41569-020-0394-8.
101. Duncker, D.J. Regulation of coronary blood flow during exercise / D.J. Duncker, R.J. Bache // *Physiological Reviews*. – 2008. – Vol. 88, № 3. – P. 1009–1086. – DOI 10.1152/physrev.00045.2006.
102. Dyck, J.R.B. Malonyl coenzyme a decarboxylase inhibition protects the ischemic heart by inhibiting fatty acid oxidation and stimulating glucose oxidation / J.R.B. Dyck, J.-F. Cheng, W.C. Stanley [et al.] // *Circulation Research*. – 2004. – Vol. 94, № 9. – P. e78-84. – DOI 10.1161/01.RES.0000129255.19569.8f.

103. Dyck, J.R.B. Phosphorylation control of cardiac acetyl-CoA carboxylase by cAMP-dependent protein kinase and 5'-AMP activated protein kinase / J.R.B. Dyck, N. Kudo, A.J. Barr [et al.] // *European Journal of Biochemistry*. – 1999. – Vol. 262, № 1. – P. 184–190. – DOI 10.1046/j.1432-1327.1999.00371.x.
104. Dzerve, V. A dose-dependent improvement in exercise tolerance in patients with stable angina treated with mildronate: a clinical trial «MILSS I» / V. Dzerve, S. Hansone, A. Erglis [et al.] // *Medicina*. – 2011. – Vol. 47, № 10. – P. 544–551. – PMID 22186118.
105. Dzerve, V. Mildronate improves the exercise tolerance in patients with stable angina: results of a long term clinical trial [Электронный реПупP] / V. Dzerve, D. Matisone, Y. Pozdnyakov, R. Oganov // *Seminars in Cardiovascular Medicine*. – 2010. – Vol. 16, № 3. – P. 1-8. – URL <https://mildronatecom.files.wordpress.com/2016/04/mildronate-improves-the-exercise-tolerance-in-patients-with-stable-angina-results-of-a-long-term-clinical-trial.pdf> [дата обращения 31.01.2023].
106. Essandoh, K. Tsg101 is involved in the sorting and re-distribution of glucose transporter-4 to the sarcolemma membrane of cardiac myocytes / K. Essandoh, S. Deng, X. Wang [et al.] // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 9. – P. 1936. – DOI 10.3390/cells9091936.
107. Eu, J.P. The skeletal muscle calcium release channel / J.P. Eu, J. Sun, L. Xu [et al.] // *Cell*. – 2000. – Vol. 102, № 4. – P. 499–509. – DOI 10.1016/S0092-8674(00)00054-4.
108. Evans, C.L. The effect of glucose on the gaseous metabolism of the isolated mammalian heart / C.L. Evans // *The Journal of Physiology*. — 1914. — Vol. 47, № 6. — P. 407—418. – DOI 10.1113/jphysiol.1914.sp001633.
109. Fabiato, A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum / A. Fabiato // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 1983. – Vol. 245, № 1. – P. C1–C14. – DOI 10.1152/ajpcell.1983.245.1.C1.
110. Fang, W. Resveratrol alleviates diabetic cardiomyopathy in rats by improving mitochondrial function through PGC-1 α deacetylation / W. Fang, C. Wang, Y. He [et al.] // *Acta Pharmacologica Sinica*. – 2018. – Vol. 39, № 1. – P. 59–73. – DOI 10.1038/aps.2017.50.
111. Fantini, E. Some biochemical aspects of the protective effect of trimetazidine on rat cardiomyocytes during hypoxia and reoxygenation / E. Fantini, L. Demaison, E. Sentex [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 1994. – Vol. 26, № 8. – P. 949–958. – DOI 10.1006/jmcc.1994.1116.
112. FDA revises label of diabetes drug canagliflozin (Invokana, Invokamet) to include updates on bone fracture risk and new information on decreased bone mineral density [Электронный реПупP.] / FDA Drug Safety Communication // Department of Health and Human Services. – 2015. – URL <https://www.fda.gov/media/93815/download> [дата обращения 20.01.2023].

113. FDA revises labels of SGLT2 inhibitors for diabetes to include warnings about too much acid in the blood and serious urinary tract infections [Электронный реПурП.] / FDA Drug Safety Communication // Department of Health and Human Services. – 2015. – URL <https://www.fda.gov/media/94822/download> [дата обращения 20.01.2023].
114. Felitsyn, N. Dichloroacetate causes reversible demyelination in vitro: potential mechanism for its neuropathic effect / N. Felitsyn, P.W. Stacpoole, L. Notterpek // Journal of Neurochemistry. – 2007. – Vol. 100, № 2. – P. 429–436. – DOI 10.1111/j.1471-4159.2006.04248.x.
115. Ferrannini, E. Shift to fatty substrate utilization in response to sodium–glucose cotransporter 2 inhibition in subjects without diabetes and patients with type 2 diabetes / E. Ferrannini, S. Baldi, S. Frascerra [et al.] // Diabetes. – 2016. – Vol. 65, № 5. – P. 1190–1195. – DOI 10.2337/db15-1356.
116. Ferrari, R. Efficacy and safety of trimetazidine after percutaneous coronary intervention (ATPCI): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial / R. Ferrari, I. Ford, K. Fox [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 396, № 10254. – P. 830–838. – DOI 10.1016/S0140-6736(20)31790-6.
117. Fillmore, N. Targeting mitochondrial oxidative metabolism as an approach to treat heart failure / N. Fillmore, G.D. Lopaschuk // Biochimica et Biophysica Acta. – 2013. – Vol. 1833, № 4. – P. 857–865. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2012.08.014.
118. Fiske, C.H. The nature of the “Inorganic Phosphate” in voluntary muscle / C.H. Fiske, Y. Subbarow // Science. – 1927. – Vol. 65, № 1686. – P. 401–403. – DOI 10.1126/science.65.1686.401.
119. Flores-Guerrero, J.L. Association of beta-hydroxybutyrate with development of heart failure: Sex differences in a Dutch population cohort / J.L. Flores-Guerrero, B.D. Westenbrink, M.A. Connelly [et al.] // European Journal of Clinical Investigation. – 2021. – Vol. 51, № 5. – C. 2129-2141 – DOI 10.1111/eci.13468.
120. Flowers, N. Co-enzyme Q10 supplementation for the primary prevention of cardiovascular disease / N. Flowers, L. Hartley, D. Todkill [et al.] // The Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2014. – Vol. 2014, № 12. – P. CD010405. – DOI 10.1002/14651858.CD010405.pub2.
121. Fragasso, G. Deranged cardiac metabolism and the pathogenesis of heart failure / G. Fragasso // Cardiac Failure Review – 2016. – Vol. 2, № 1 – P.8–13. – DOI 10.15420/cfr.2016:5:2.
122. Frank, A. Myocardial ischemia reperfusion injury: from basic science to clinical bedside / A. Frank, M. Bonney, S. Bonney [et al.] // Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2012. – Vol. 16, № 3. – P. 123–132. – DOI 10.1177/1089253211436350.
123. Fujita, T. The role of Epac in the heart / T. Fujita, M. Umemura, U. Yokoyama [et al.] // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2017. – Vol. 74, № 4. – P. 591–606. – DOI 10.1007/s00018-016-2336-5.

124. Garcia, M.I. Cardiac inositol 1,4,5-trisphosphate receptors / M.I. Garcia, D. Boehning // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. – 2017. – Vol. 1864, № 6. – P. 907–914. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2016.11.017.
125. Garland, C.J. Endothelium-dependent hyperpolarization: the evolution of myoendothelial microdomains / C.J. Garland, K.A. Dora // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2021. – Vol. 78, № 6s. – P. s3–12. – DOI 10.1097/FJC.0000000000001087.
126. GBD 2017 Causes of death collaborators global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / GBD 2017 Causes of Death Collaborators // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392, № 10159 – P.1736–1788. – DOI 10.1016/S0140-6736(18)32203-7.
127. Gehmlich, K. Changes in the cardiac metabolome caused by perhexiline treatment in a mouse model of hypertrophic cardiomyopathy / K. Gehmlich, M.S. Dodd, J. William Allwood [et al.] // *Molecular BioSystems*. – 2015. – Vol. 11, № 2. – P. 564–573. – DOI 10.1039/C4MB00594E.
128. Ghasi, S. Piperazine protects the rat heart against sudden cardiac death from barium chloride-induced ventricular fibrillation / S. Ghasi // *American Journal of Therapeutics*. – 2008. – Vol. 15, № 2. – P. 119–125. – DOI 10.1097/MJT.0b013e3180a5e6b7.
129. Ghosh, A. Role of free fatty acids in endothelial dysfunction / A. Ghosh, L. Gao, A. Thakur [et al.] // *Journal of Biomedical Science*. – 2017. – Vol. 24, № 1. – P. 50. – DOI 10.1186/s12929-017-0357-5.
130. Gibb, A.A. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling / A.A. Gibb, B.G. Hill // *Circulation Research* – 2018. – Vol. 123, № 1 – P.107–128. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.118.312017.
131. Gilde, A.J. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α and PPAR β/δ , but not PPAR γ , modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism / A.J. Gilde, K.A.J.M. van der Lee, P.H.M. Willemsen [et al.] // *Circulation Research*. – 2003. – Vol. 92, № 5. – P. 518–524. – DOI 10.1161/01.RES.0000060700.55247.7C.
132. Go, L.O. Differential regulation of two types of intracellular calcium release channels during end-stage heart failure / L.O. Go, M.C. Moschella, J. Watras [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. – 1995. – Vol. 95, № 2. – P. 888–894. – DOI 10.1172/JCI117739.
133. Godo, S. Endothelial functions / S. Godo, H. Shimokawa // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2017. – Vol. 37, № 9. – P. e108–e114. – DOI 10.1161/ATVBAHA.117.309813.
134. Goldberg, I.J. Lipid metabolism and toxicity in the heart / I.J. Goldberg, C.M. Trent, P.C. Schulze // *Cell Metabolism*. – 2012. – Vol. 15, № 6. – P. 805–812. – DOI 10.1016/j.cmet.2012.04.006.

135. Gonzalez, D.R. Deficient ryanodine receptor S-nitrosylation increases sarcoplasmic reticulum calcium leak and arrhythmogenesis in cardiomyocytes / D.R. Gonzalez, F. Beigi, A.V. Treuer, J.M. Hare // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2007. – Vol. 104, № 51. – P. 20612–20617. – DOI 10.1073/pnas.0706796104.
136. Gou, D. Antiarrhythmic effects of ginsenoside Rg2 on calcium chloride–induced arrhythmias without oral toxicity / D. Gou, X. Pei, J. Wang [et al.] // *Journal of Ginseng Research*. – 2020. – Vol. 44, № 5. – P. 717–724. – DOI 10.1016/j.jgr.2019.06.005.
137. Green, J.B. Effect of sitagliptin on cardiovascular outcomes in type 2 diabetes / J.B. Green, M.A. Bethel, P.W. Armstrong [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 373, № 3. – P. 232–242. – DOI 10.1056/NEJMoa1501352.
138. Gropler, R.J. Imaging myocardial metabolic remodeling / R.J. Gropler, R.S.B. Beanlands, V. Dilsizian [et al.] // *Journal of Nuclear Medicine* – 2010. – Vol. 51, № Supplement 1 – P.88S-101S. – DOI 10.2967/jnumed.109.068197.
139. Grossman, A.N. Glucose-Insulin-Potassium Revived: Current Status in Acute Coronary Syndromes and the Energy-Depleted Heart / A.N. Grossman, L.H. Opie, J.R. Beshansky [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 127, № 9. – P. 1040–1048. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.130625.
140. Grover-McKay, M. Regional myocardial blood flow and metabolism at rest in mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy / M. Grover-McKay, M. Schwaiger, J. Krivokapich [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1989. – Vol. 13, № 2. – P. 317–324. – DOI 10.1016/0735-1097(89)90505-6.
141. Grube, M. Uptake of cardiovascular drugs into the human heart: expression, regulation, and function of the carnitine transporter OCTN2 (SLC22A5) / M. Grube, H.E.U. Meyer Zu Schwabedissen, D. Präger [et al.] // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113, № 8. – P. 1114–1122. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.586107.
142. Grumbach, L. Factors related to the initiation of ventricular fibrillation in the isolated heart: effect of calcium and potassium / L. Grumbach, J.W. Howard, V.I. Merrill // *Circulation Research*. – 1954. – Vol. 2, № 5. – P. 452–459. – DOI 10.1161/01.RES.2.5.452.
143. Guerra, F. Ranolazine for rhythm control in atrial fibrillation: A systematic review and meta-analysis / F. Guerra, A. Romandini, A. Barbarossa [et al.] // *International Journal of Cardiology*. – 2017. – Vol. 227, P. 284–291. – DOI 10.1016/j.ijcard.2016.11.103.
144. Günther, J. Myocardial contractility after infarction and carnitine palmitoyltransferase I inhibition in rats / J. Günther, K.-D. Wagner, H. Theres [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2000. – Vol. 406, № 1. – P. 123–126. – DOI 10.1016/S0014-2999(00)00666-X.

145. Gupte, A.A. Mechanical unloading promotes myocardial energy recovery in human heart failure / A.A. Gupte, D.J. Hamilton, A.M. Cordero-Reyes [et al.] // *Circulation: Cardiovascular Genetics*. – 2014. – Vol. 7, № 3. – P. 266–276. – DOI 10.1161/CIRCGENETICS.113.000404.
146. Gutierrez, J.A. Effects of Ranolazine in patients with chronic angina in patients with and without percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome: observations from the MERLIN-TIMI 36 trial / J.A. Gutierrez, E. Karwatowska-Prokopczuk, S.A. Murphy [et al.] // *Clinical Cardiology*. – 2015. – Vol. 38, № 8. – P. 469–475. – DOI 10.1002/clc.22425.
147. Gutser, U.T. The alkaloid 6-benzoylheteratisine inhibits voltage-gated Na⁺ channels in rat brain synaptosomes / U.T. Gutser, J. Gleitz // *Neuropharmacology*. – 1998. – Vol. 37, № 9. – P. 1139–1146. – DOI 10.1016/S0028-3908(98)00114-2.
148. Hamdan, M. Inhibition of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase-1 by a trimetazidine derivative, S-15176 / M. Hamdan, S. Urien, H. Le Louet [et al.] // *Pharmacological Research*. – 2001. – Vol. 44, № 2. – P. 99–104. – DOI 10.1006/phrs.2001.0829.
149. Hamilton, C.A. Superoxide excess in hypertension and aging: a common cause of endothelial dysfunction / C.A. Hamilton, M.J. Brosnan, M. McIntyre [et al.] // *Hypertension*. – 2001. – Vol. 37, № 2. – P. 529–534. – DOI 10.1161/01.hyp.37.2.529.
150. Hanaki, Y. Effect of 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate, gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor, on isoproterenol-induced mitochondrial dysfunction / Y. Hanaki, S. Sugiyama, T. Ozawa // *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*. – 1989. – Vol. 64, № 1. – P. 157–160. – PMID 2546223.
151. Handschin, C. The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease / C. Handschin, B.M. Spiegelman // *Nature*. – 2008. – Vol. 454, № 7203. – P. 463–469. – DOI 10.1038/nature07206.
152. Harjoko, R.P. Trimetazidine improves left ventricular global longitudinal strain value in patients with heart failure with reduced ejection fraction due to ischemic heart disease / R.P. Harjoko, M.A. Sobirin, I. Uddin [et al.] // *Drug Discoveries & Therapeutics*. – 2022. – Vol. 16, № 4. – P. 177–184. – DOI 10.5582/ddt.2022.01020.
153. Hausenloy, D.J. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target / D.J. Hausenloy, D.M. Yellon // *Journal of Clinical Investigation*. – 2013. – Vol. 123, № 1. – P. 92–100. – DOI 10.1172/JCI62874.
154. Hayashi, T. Sigma-1 receptor chaperones at the ER- mitochondrion interface regulate Ca²⁺ signaling and cell survival / T. Hayashi, T.-P. Su // *Cell*. – 2007. – Vol. 131, № 3. – P. 596–610. – DOI 10.1016/j.cell.2007.08.036.

155. Hideharu, H. Fluorescence imaging of intracellular Ca²⁺ / H. Hideharu, M. Haruo // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 1994. – Vol. 31, № 1. – P. 1–10. – DOI 10.1016/1056-8719(94)90023-X.
156. Hiramatsu, Y. Antagonizing substances obtained from whale heart extract to vasopressin induced myocardial hypoxia / Y. Hiramatsu, A. Izumi, T. Tezuka, Y. Kurosawa // *Japanese Journal of Pharmacology*. – 1970. – Vol. 20, № 3. – P. 313–324. – DOI 10.1254/jjp.20.313.
157. Ho, K.L. Increased ketone body oxidation provides additional energy for the failing heart without improving cardiac efficiency / K.L. Ho, L. Zhang, C. Wagg [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2019. – Vol. 115, № 11. – P. 1606–1616. – DOI 10.1093/cvr/cvz045.
158. Ho, K.L. Ketones can become the major fuel source for the heart but do not increase cardiac efficiency / K.L. Ho, Q.G. Karwi, C. Wagg [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2021. – Vol. 117, № 4. – P. 1178–1187. – DOI 10.1093/cvr/cvaa143.
159. Hoch, B. Identification and expression of δ -isoforms of the multifunctional Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase in failing and nonfailing human myocardium / B. Hoch, R. Meyer, R. Hetzer [et al.] // *Circulation Research*. – 1999. – Vol. 84, № 6. – P. 713–721. – DOI 10.1161/01.RES.84.6.713.
160. Holubarsch, C.J.F. A double-blind randomized multicentre clinical trial to evaluate the efficacy and safety of two doses of etomoxir in comparison with placebo in patients with moderate congestive heart failure: the ERGO (etomoxir for the recovery of glucose oxidation) study / C.J.F. Holubarsch, M. Rohrbach, M. Karrasch [et al.] // *Clinical Science*. – 2007. – Vol. 113, № 4. – P. 205–212. – DOI 10.1042/CS20060307.
161. Horton, J.L. The failing heart utilizes 3-hydroxybutyrate as a metabolic stress defense / J.L. Horton, M.T. Davidson, C. Kurishima [et al.] // *JCI insight*. – 2019. – Vol. 4, № 4. – P. e124079. – DOI 10.1172/jci.insight.124079.
162. Huang, Q. A SIRT1 activator, ginsenoside Rc, promotes energy metabolism in cardiomyocytes and neurons / Q. Huang, H. Su, B. Qi [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2021. – Vol. 143, № 3. – P. 1416–1427. – DOI 10.1021/jacs.0c10836.
163. Hue, L. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat / L. Hue, H. Taegtmeyer // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2009. – Vol. 297, № 3. – P. E578–E591. – DOI 10.1152/ajpendo.00093.2009.
164. Hui, S. Glucose feeds the TCA cycle via circulating lactate / S. Hui, J.M. Ghergurovich, R.J. Morscher [et al.] // *Nature*. – 2017. – Vol. 551, № 7678. – P. 115–118. – DOI 10.1038/nature24057.
165. Invasive Blood Pressure: fundamentals and best practices for preclinical research (вебинар) [Электронный реPурP] / T.L. Smith // *InsideScientific* : образовательный онлайн-портал для

иРРледователей биологичеРких наук. – 2017.

URL <https://insidescientific.com/webinar/fundamentals-invasive-blood-pressure-adinstruments/>
[дата обращения 23.01.2023].

166. Jahangir, E. The effect of l-arginine and creatine on vascular function and homocysteine metabolism / E. Jahangir, J.A. Vita, D. Handy [et al.] // *Vascular Medicine*. – 2009. – Vol. 14, № 3. – P. 239–248. – DOI 10.1177/1358863X08100834.
167. Jain, S. Anticonvulsant and antioxidant actions of trimetazidine in pentylenetetrazole-induced kindling model in mice / S. Jain, N. Bharal, S. Khurana [et al.] // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. – 2011. – Vol. 383, № 4. – P. 385–392. – DOI 10.1007/s00210-011-0606-1.
168. Jamwal, S. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders / S. Jamwal, S. Sharma // *Inflammation Research*. – 2018. – Vol. 67, № 5. – P. 391–405. – DOI 10.1007/s00011-018-1129-8.
169. Janicki, J.S. Myocardial collagen remodeling and left ventricular diastolic function / J.S. Janicki // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 1992. – Vol. 25, № 10. – P. 975–982. – PMID 1342831.
170. Jennings, R.B. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog / R.B. Jennings, H.M. Sommers, G.A. Smyth [et al.] // *Archives of Pathology*. – 1960. – Vol. 70, P. 68–78. – PMID 14407094.
171. Jiang, Y. The barium site in a potassium channel by X-ray crystallography / Y. Jiang, R. MacKinnon // *The Journal of General Physiology*. – 2000. – Vol. 115, № 3. – P. 269–272. – DOI 10.1085/jgp.115.3.269.
172. Jorsal, A. Effect of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 analogue, on left ventricular function in stable chronic heart failure patients with and without diabetes (LIVE) — a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial / A. Jorsal, C. Kistorp, P. Holmager [et al.] // *European Journal of Heart Failure*. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 69–77. – DOI 10.1002/ejhf.657.
173. Joseph, L.C. Inhibition of NAPDH oxidase 2 (NOX2) prevents oxidative stress and mitochondrial abnormalities caused by saturated fat in cardiomyocytes / L.C. Joseph, E. Barca, P. Subramanyam [et al.] // *PLoS ONE* – 2016. – Vol. 11, № 1. – P. e0145750. – DOI 10.1371/journal.pone.0145750.
174. Kantor, P.F. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase / P.F. Kantor, A. Lucien, R. Kozak, G.D. Lopaschuk // *Circulation Research*. – 2000. – Vol. 86, № 5. – P. 580–588. – DOI 10.1161/01.res.86.5.580.

175. Karbowska, J. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha is downregulated in the failing human heart / J. Karbowska, Z. Kochan, R.T. Smoleński // *Cellular & Molecular Biology Letters*. – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 49–53.
176. Karwi, Q.G. Insulin directly stimulates mitochondrial glucose oxidation in the heart / Q.G. Karwi, C.S. Wagg, T.R. Altamimi [et al.] // *Cardiovascular Diabetology*. – 2020. – Vol. 19, № 1. – P. 207. – DOI 10.1186/s12933-020-01177-3.
177. Karwi, Q.G. Myocardial ketones metabolism in heart failure / Q.G. Karwi, D. Biswas, T. Pulinilkunnil, G.D. Lopaschuk // *Journal of Cardiac Failure*. – 2020. – Vol. 26, № 11. – P. 998–1005. – DOI 10.1016/j.cardfail.2020.04.005.
178. Kim, J.K. PKC- θ knockout mice are protected from fat-induced insulin resistance / J.K. Kim, J.J. Fillmore, M.J. Sunshine, B [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2004. – Vol. 114, № 6. – P. 823–827. – DOI 10.1172/JCI200422230.
179. Kolobova, E. Regulation of pyruvate dehydrogenase activity through phosphorylation at multiple sites / E. Kolobova, A. Tuganova, I. Boulatnikov, K.M. Popov // *Biochemical Journal*. – 2001. – Vol. 358, № 1. – P. 69–77. – DOI 10.1042/bj3580069.
180. Kolwicz, S.C. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes / S.C. Kolwicz, S. Purohit, R. Tian // *Circulation Research*. – 2013. – Vol. 113, № 5. – P. 603–616. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.113.302095.
181. Konukoglu, D. Endothelial dysfunction and hypertension / D. Konukoglu, H. Uzun // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2017. – Vol. 956, P. 511–540. – DOI 10.1007/5584_2016_90.
182. Koster, R. Acetic acid for analgesic screening / R. Koster, M. Anderson, E.J. De Beer // *E.J. Fed. Proc.* — 1959. – Vol. 18. – P. 412-415.
183. Krishnan, J. Activation of a HIF1 α -PPAR γ axis underlies the integration of glycolytic and lipid anabolic pathways in pathologic cardiac hypertrophy / J. Krishnan, M. Suter, R. Windak [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2009. – Vol. 9, № 6. – P. 512–524. – DOI 10.1016/j.cmet.2009.05.005.
184. Krzeminski, T. A rapid in vivo technique for the screening of potential anti-dysrhythmic agents / T. Krzeminski // 7th freiburg focus on biomeasurement. Cardiovascular and respiratory in vivo studies. – March, Germany : Biomesstechnik-Verlag March GmbH, 1991.– P. 125–135.
185. Kumar, A.A. Mitochondrial dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction / A.A. Kumar, D.P. Kelly, J.A. Chirinos // *Circulation*. – 2019. – Vol. 139, № 11. – P. 1435–1450. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036259.
186. Lahey, R. Enhanced redox state and efficiency of glucose oxidation with miR based suppression of maladaptive NADPH-dependent malic enzyme 1 expression in hypertrophied hearts / R. Lahey,

- A.N. Carley, X. Wang [et al.] // *Circulation Research*. – 2018. – Vol. 122, № 6. – P. 836–845. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.118.312660.
187. Lam, V.H. Activating PPAR α prevents post-ischemic contractile dysfunction in hypertrophied neonatal hearts / V.H. Lam, L. Zhang, A. Huqi [et al.] // *Circulation Research*. – 2015. – Vol. 117, № 1. – P. 41–51. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.117.306585.
188. Landoni, G. Cardiac protection with phosphocreatine: a meta-analysis / G. Landoni, A. Zangrillo, V.V. Lomivorotov [et al.] // *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*. – 2016. – Vol. 23, № 4. – P. 637–646. – DOI 10.1093/icvts/ivw171.
189. Lang, R.M. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography’s Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology / R.M. Lang, M. Bierig, R.B. Devereux [et al.] // *Journal of the American Society of Echocardiography*. – 2005. – Vol. 18, № 12. – P. 1440–1463. – DOI 10.1016/j.echo.2005.10.005.
190. Latruffe, N. Evolutionary aspects of peroxisomes as cell organelles, and of genes encoding peroxisomal proteins / N. Latruffe, J. Vamecq // *Biology of the Cell*. – 2000. – Vol. 92, № 6. – P. 389–395. – DOI 10.1016/S0248-4900(00)01083-2.
191. Lee, L. Metabolic manipulation in ischaemic heart disease, a novel approach to treatment / L. Lee, J. Horowitz, M. Frenneaux // *European Heart Journal*. – 2004. – Vol. 25, № 8. – P. 634–641. – DOI 10.1016/j.ehj.2004.02.018.
192. Lehnart, S.E. Phosphodiesterase 4D deficiency in the ryanodine-receptor complex promotes heart failure and arrhythmias / S.E. Lehnart, X.H.T. Wehrens, S. Reiken [et al.] // *Cell*. – 2005. – Vol. 123, № 1. – P. 25–35. – DOI 10.1016/j.cell.2005.07.030.
193. Lemasters, J.J. The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes / J.J. Lemasters, J.M. Bond, E. Chacon [et al.] // *Experientia supplementum*. – 1996. – Vol. 76, P. 99–114. – DOI 10.1007/978-3-0348-8988-9_7.
194. Lentz, S.R. Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA / S.R. Lentz, R.N. Rodionov, S. Dayal // *Atherosclerosis Supplements*. – 2003. – Vol. 4, № 4. – P. 61–65. – DOI 10.1016/S1567-5688(03)00035-7.
195. Lewis, G.A. Pirfenidone in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized phase 2 trial / G.A. Lewis, S. Dodd, D. Clayton [et al.] // *Nature Medicine*. – 2021. – Vol. 27, № 8. – P. 1477–1482. – DOI 10.1038/s41591-021-01452-0.
196. Li, N. Inhibition of CaMKII Phosphorylation of RyR2 Prevents Induction of Atrial Fibrillation in FKBP12.6 Knockout Mice / N. Li, T. Wang, W. Wang [et al.] // *Circulation Research*. – 2012. – Vol. 110, № 3. – P. 465–470. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.111.253229.

197. Li, T. Defective branched-chain amino acid catabolism disrupts glucose metabolism and sensitizes the heart to ischemia-reperfusion injury / T. Li, Z. Zhang, S.C. Kolwicz [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2017. – Vol. 25, № 2. – P. 374–385. – DOI 10.1016/j.cmet.2016.11.005.
198. Li, X. Dichloroacetate ameliorates cardiac dysfunction caused by ischemic insults through AMPK signal pathway—not only shifts metabolism / X. Li, J. Liu, H. Hu [et al.] // *Toxicological Sciences*. – 2019. – Vol. 167, № 2. – P. 604–617. – DOI 10.1093/toxsci/kfy272.
199. Li, Y. Branched chain amino acids exacerbate myocardial ischemia/reperfusion vulnerability via enhancing GCN2/ATF6/PPAR- α pathway-dependent fatty acid oxidation / Y. Li, Z. Xiong, W. Yan [et al.] // *Theranostics*. – 2020. – Vol. 10, № 12. – P. 5623–5640. – DOI 10.7150/thno.44836.
200. Liang, S. Coenzyme Q10 regulates antioxidative stress and autophagy in acute myocardial ischemia-reperfusion injury / S. Liang, Z. Ping, J. Ge // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2017. – Vol. 2017, P. 1–12. – DOI 10.1155/2017/9863181.
201. Libbus, I. Remodeling of cardiac repolarization: mechanisms and implications of memory / I. Libbus, D.S. Rosenbaum // *Cardiac Electrophysiology Review*. – 2002. – Vol. 6, № 3. – P. 302–310. – DOI 10.1023/a:1016349613464.
202. Lin, A.H.Y. Conformation of ryanodine receptor-2 gates store-operated calcium entry in rat pulmonary arterial myocytes / A.H.Y. Lin, H. Sun, O. Paudel [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2016. – Vol. 111, № 1. – P. 94–104. – DOI 10.1093/cvr/cvw067.
203. Ling, H. Ca²⁺/Calmodulin-dependent protein kinase II δ mediates myocardial ischemia/reperfusion injury through nuclear factor- κ B / H. Ling, C.B.B. Gray, A.C. Zambon [et al.] // *Circulation Research*. – 2013. – Vol. 112, № 6. – P. 935–944. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.112.276915.
204. Linke, A. Acute and chronic endothelial dysfunction: implications for the development of heart failure / A. Linke, F. Recchia, X. Zhang, T.H. Hintze // *Heart Failure Reviews*. – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 87–97. – DOI 10.1023/a:1022151106019.
205. Lionetti, V. Carnitine palmitoyl transferase-I inhibition prevents ventricular remodeling and delays decompensation in pacing-induced heart failure / V. Lionetti, A. Linke, M. Chandler [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2005. – Vol. 66, № 3. – P. 454–461. – DOI 10.1016/j.cardiores.2005.02.004.
206. Locke, F.S. Contributions to the physiology of the isolated heart: The consumption of dextrose by mammalian cardiac muscle / F.S. Locke, O. Rosenheim // *The Journal of Physiology*. – 1907. – Vol. 36, № 4–5. – P. 205–220. – DOI 10.1113/jphysiol.1907.sp001229.
207. Loiacono, F. Terapia metabolica per l'insufficienza cardiaca / F. Loiacono, L. Alberti, L. Lauretta [et al.] // *Recenti Progressi in Medicina* – 2014. – Vol. 105, № 7-8 – P.288-294. – DOI 10.1701/1574.17114.

208. Lommi, J. Blood ketone bodies in congestive heart failure / J. Lommi, M. Kupari, P. Koskinen [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1996. – Vol. 28, № 3. – P. 665–672. – DOI 10.1016/0735-1097(96)00214-8.
209. Lønborg, J. Exenatide reduces final infarct size in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction and short-duration of ischemia / J. Lønborg, H. Kelbæk, N. Vejlstrup [et al.] // *Circulation. Cardiovascular Interventions*. – 2012. – Vol. 5, № 2. – P. 288–295. – DOI 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.112.968388.
210. Lopaschuk, G.D. Optimizing cardiac energy metabolism: how can fatty acid and carbohydrate metabolism be manipulated? / G.D. Lopaschuk // *Coronary Artery Disease*. – 2001. – Vol. 12 Sup. 1, P. S8-11. – PMID 11286307.
211. Lopaschuk, G.D. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease / G.D. Lopaschuk, D.D. Belke, J. Gamble [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*. – 1994. – Vol. 1213, № 3. – P. 263–276. – DOI 10.1016/0005-2760(94)00082-4.
212. Luan, Y. Structure and function of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes (MAMs) and their role in cardiovascular diseases / Y. Luan, Y. Luan, R.-X. Yuan [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2021. – Vol. 2021, P. 4578809. – DOI 10.1155/2021/4578809.
213. Lucia, C.D. New insights in cardiac β -adrenergic signaling during heart failure and aging / C.D. Lucia, A. Eguchi, W.J. Koch // *Frontiers in Pharmacology*. – 2018. – Vol. 9, P. 904. – DOI 10.3389/fphar.2018.00904.
214. Luo, X.-Y. Function and mechanism of trimetazidine in myocardial infarction-induced myocardial energy metabolism disorder through the SIRT1-AMPK pathway / X.-Y. Luo, Z. Zhong, A.-G. Chong [et al.] // *Frontiers in Physiology*. – 2021. – Vol. 12, P. 645041. – DOI 10.3389/fphys.2021.645041.
215. Mahmood, A. β -adrenergic receptor desensitization/down-regulation in heart failure: a friend or foe? / A. Mahmood, K. Ahmed, Y. Zhang // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – Vol. 9, P. 925692. – DOI 10.3389/fcvm.2022.925692.
216. Malinow, M.R. Nervous mechanisms in ventricular arrhythmias induced by calcium chloride in rats / M.R. Malinow, F.F. Battle, B. Malamud // *Circulation Research*. – 1953. – Vol. 1, № 6. – P. 554–559. – DOI 10.1161/01.RES.1.6.554.
217. Mann, G.E. Regulation of amino acid and glucose transporters in endothelial and smooth muscle cells / G.E. Mann, D.L. Yudilevich, L. Sobrevia // *Physiological Reviews*. – 2003. – Vol. 83, № 1. – P. 183–252. – DOI 10.1152/physrev.00022.2002.

218. Margulies, K.B. Effects of liraglutide on clinical stability among patients with advanced heart failure and reduced ejection fraction: a randomized clinical trial / K.B. Margulies, A.F. Hernandez, M.M. Redfield [et al.] // *JAMA*. – 2016. – Vol. 316, № 5. – P. 500. – DOI 10.1001/jama.2016.10260.
219. Marks, A.R. A Guide for the perplexed: towards an understanding of the molecular basis of heart failure / A.R. Marks // *Circulation*. – 2003. – Vol. 107, № 11. – P. 1456–1459. – DOI 10.1161/01.CIR.0000059745.95643.83.
220. Marks, A.R. Targeting ryanodine receptors to treat human diseases / A.R. Marks // *Journal of Clinical Investigation*. – 2023. – Vol. 133, № 2. – P. e162891. – DOI 10.1172/JCI162891.
221. Marso, S.P. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes / S.P. Marso, G.H. Daniels, K. Brown-Frandsen [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2016. – Vol. 375, № 4. – P. 311–322. – DOI 10.1056/NEJMoa1603827.
222. Marx, S.O. PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor) / S.O. Marx, S. Reiken, Y. Hisamatsu [et al.] // *Cell*. – 2000. – Vol. 101, № 4. – P. 365–376. – DOI 10.1016/S0092-8674(00)80847-8.
223. Mattiazzi, A. Ca²⁺ Sparks and Ca²⁺ waves are the subcellular events underlying Ca²⁺ overload during ischemia and reperfusion in perfused intact hearts / A. Mattiazzi, M. Argenziano, Y. Aguilar-Sanchez [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2015. – Vol. 79, P. 69–78. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2014.10.011.
224. Mazumder, P.K. Impaired cardiac efficiency and increased fatty acid oxidation in insulin-resistant ob/ob mouse hearts / P.K. Mazumder, B.T. O’Neill, M.W. Roberts [et al.] // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53, № 9. – P. 2366–2374. – DOI 10.2337/diabetes.53.9.2366.
225. McCarron, J.G. Sarcolemma agonist-induced interactions between InsP₃ and ryanodine receptors in Ca²⁺ oscillations and waves in smooth muscle / J.G. McCarron, K.N. Bradley, D. MacMillan [et al.] // *Biochemical Society Transactions*. – 2003. – Vol. 31, № 5. – P. 920–924. – DOI 10.1042/bst0310920.
226. McCauley, M.D. Ryanodine receptor phosphorylation, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, and life-threatening ventricular arrhythmias / M.D. McCauley, X.H.T. Wehrens // *Trends in Cardiovascular Medicine*. – 2011. – Vol. 21, № 2. – P. 48–51. – DOI 10.1016/j.tcm.2012.02.004.
227. Mehta, P.K. Ranolazine reduces angina in women with ischemic heart disease: results of an open-label, multicenter trial / P.K. Mehta, S. Sharma, M. Minissian [et al.] // *Journal of Women’s Health*. – 2019. – Vol. 28, № 5. – P. 573–582. – DOI 10.1089/jwh.2018.7019.
228. Mehta, S.R. Effect of glucose-insulin-potassium infusion on mortality in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: the CREATE-ECLA randomized controlled trial /

- S.R. Mehta, S. Yusuf, R. Díaz [et al.] // JAMA. – 2005. – Vol. 293, № 4. – P. 437. – DOI 10.1001/jama.293.4.437.
229. Meier, J.J. Cardiovascular effects of liraglutide therapy in patients with type 2 diabetes : liraglutide effect and action in diabetes: evaluation of cardiovascular outcome results (LEADER) / J.J. Meier, S. Nitschmann // Der Internist. – 2017. – Vol. 58, № 3. – P. 303–306. – DOI 10.1007/s00108-017-0193-4.
230. Minotti, G. Pharmacology of ranolazine versus common cardiovascular drugs in patients with early diastolic dysfunction induced by anthracyclines or nonanthracycline chemotherapeutics: a phase 2b minitrial / G. Minotti, P. Menna, V. Calabrese [et al.] // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2019. – Vol. 370, № 2. – P. 197–205. – DOI 10.1124/jpet.119.258178.
231. Momen, A. Effects of sustained-release trimetazidine on chronically dysfunctional myocardium of ischemic dilated cardiomyopathy – Six months follow-up result / A. Momen, M. Ali, P.K. Karmakar [et al.] // Indian Heart Journal. – 2016. – Vol. 68, № 6. – P. 809–815. – DOI 10.1016/j.ihj.2016.03.021.
232. Mori, J. Impact of the renin–angiotensin system on cardiac energy metabolism in heart failure / J. Mori, L. Zhang [et al.] // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2013. – Vol. 63, P. 98–106. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2013.07.010.
233. Morio, A. Leucine imparts cardioprotective effects by enhancing mTOR activity and mitochondrial fusion in a myocardial ischemia/reperfusion injury murine model / A. Morio, R. Tsutsumi, S. Satomi [et al.] // Diabetology & Metabolic Syndrome. – 2021. – Vol. 13, № 1. – P. 139. – DOI 10.1186/s13098-021-00755-z.
234. Münzel, T. Impact of oxidative stress on the heart and vasculature: Part 2 of a 3-Part Series / T. Münzel, G.G. Camici, C. Maack [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2017. – Vol. 70, № 2. – P. 212–229. – DOI 10.1016/j.jacc.2017.05.035.
235. Murashige, D. Comprehensive quantification of fuel use by the failing and nonfailing human heart / D. Murashige, C. Jang, M. Neinast [et al.] // Science. – 2020. – Vol. 370, № 6514. – P. 364–368. – DOI 10.1126/science.abc8861.
236. Nakai, J. Primary structure and functional expression from cDN A of the cardiac ryanodine receptor/calcium release channel / J. Nakai, T. Imagawa, Y. Hakamata [et al.] // FEBS Letters. – 1990. – Vol. 271, № 1–2. – P. 169–177. – DOI 10.1016/0014-5793(90)80399-4.
237. Naruse, K. Activation of vascular protein kinase C- β inhibits Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase function in obesity-associated insulin resistance / K. Naruse, C. Rask-Madsen, N. Takahara [et al.] // Diabetes. – 2006. – Vol. 55, № 3. – P. 691–698. – DOI 10.2337/diabetes.55.03.06.db05-0771.

238. Neishabouri, S.H. Chronic activation of mTOR complex 1 by branched chain amino acids and organ hypertrophy / S.H. Neishabouri, S.M. Hutson, J. Davoodi // *Amino Acids*. – 2015. – Vol. 47, № 6. – P. 1167–1182. – DOI 10.1007/s00726-015-1944-y.
239. Neubauer, S. The failing heart – an engine out of fuel / S. Neubauer // *The New England Journal of Medicine*. – 2007. – Vol. 356, № 11. – P. 1140–1151. – DOI 10.1056/NEJMra063052.
240. Nguyen, T.D. Lipid in the midst of metabolic remodeling – Therapeutic implications for the failing heart / T.D. Nguyen, P.C. Schulze // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2020. – Vol. 159, P. 120–132. – DOI 10.1016/j.addr.2020.08.004.
241. Nielsen, R. Cardiovascular effects of treatment with the ketone body 3-hydroxybutyrate in chronic heart failure patients / R. Nielsen, N. Møller, L.C. Gormsen [et al.] // *Circulation*. – 2019. – Vol. 139, № 18. – P. 2129–2141. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036459.
242. Nikolaidis, L.A. Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy / L.A. Nikolaidis, D. Elahi, T. Hentosz [et al.] // *Circulation*. – 2004. – Vol. 110, № 8. – P. 955–961. – DOI 10.1161/01.CIR.0000139339.85840.DD.
243. Noordali, H. Cardiac metabolism — a promising therapeutic target for heart failure / H. Noordali, B.L. Loudon, M.P. Frenneaux, M. Madhani // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2018. – Vol. 182, P. 95–114. – DOI 10.1016/j.pharmthera.2017.08.001.
244. O'Rourke, B. Mitochondrial Ca²⁺ in heart failure: not enough or too much? / B. O'Rourke, D. Ashok, T. Liu // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2021. – Vol. 151, P. 126–134. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2020.11.014.
245. Ogawa, H. Regulatory mechanisms of ryanodine receptor/Ca²⁺ release channel revealed by recent advancements in structural studies / H. Ogawa, N. Kurebayashi, T. Yamazawa, T. Murayama // *Journal of Muscle Research and Cell Motility*. – 2021. – Vol. 42, № 2. – P. 291–304. – DOI 10.1007/s10974-020-09575-6.
246. Oka, S. Peroxisome proliferator activated receptor- α association with silent information regulator 1 suppresses cardiac fatty acid metabolism in the failing heart / S. Oka, P. Zhai, T. Yamamoto [et al.] // *Circulation: Heart Failure*. – 2015. – Vol. 8, № 6. – P. 1123–1132. – DOI 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002216.
247. Olefsky, J.M. Insulin's effect on glucose oxidation independent of glucose transport / J.M. Olefsky // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1976. – Vol. 71, № 1. – P. 106–113. – DOI 10.1016/0006-291X(76)90255-2.
248. Oparil, S. Pathogenesis of ventricular hypertrophy / S. Oparil // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1985. – Vol. 5, № 6. – P. 57B–65B. – DOI 10.1016/S0735-1097(85)80528-3.

249. Papadopoulos, P. Urotensin-II and cardiovascular remodeling / P. Papadopoulos, N. Bousette, A. Giaid // *Peptides*. – 2008. – Vol. 29, № 5. – P. 764–769. – DOI 10.1016/j.peptides.2007.09.012.
250. Papatheodorou, I. Cardioprotective effects of PPAR β/δ activation against ischemia/reperfusion injury in rat heart are associated with ALDH2 upregulation, amelioration of oxidative stress and preservation of mitochondrial energy production / I. Papatheodorou, E. Galatou, G.-D. Panagiotidis [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 12. – P. 6399. – DOI 10.3390/ijms22126399.
251. Patterson, B. New insights into myocardial glucose metabolism: surviving under stress: / B. Patterson, A.V. Fields, R.P. Shannon // *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. – 2009. – Vol. 12, № 4. – P. 424–430. – DOI 10.1097/MCO.0b013e32832c4167.
252. Pellioux, C. Overexpression of angiotensinogen in the myocardium induces downregulation of the fatty acid oxidation pathway / C. Pellioux, E. Aasum, T.S. Larsen [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2006. – Vol. 41, № 3. – P. 459–466. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2006.06.004.
253. Perez, P.J. Identification and functional reconstitution of the type 2 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor from ventricular cardiac myocytes / P.J. Perez, J. Ramos-Franco, M. Fill, G.A. Mignery // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – Vol. 272, № 38. – P. 23961–23969. – DOI 10.1074/jbc.272.38.23961.
254. Pflieger, J. G protein-coupled receptor kinases as therapeutic targets in the heart / J. Pflieger, K. Gresham, W.J. Koch // *Nature Reviews Cardiology*. – 2019. – Vol. 16, № 10. – P. 612–622. – DOI 10.1038/s41569-019-0220-3.
255. Pibiri, F. Up-regulation of GABAB receptors by chronic administration of the GABAB receptor antagonist SCH 50,911 / F. Pibiri, G. Carboni, M.A.M. Carai [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2005. – Vol. 515, № 1–3. – P. 94–98. – DOI 10.1016/j.ejphar.2005.03.040.
256. Pinali, C. Three-dimensional reconstruction of cardiac sarcoplasmic reticulum reveals a continuous network linking transverse-tubules: this organization is perturbed in heart failure / C. Pinali, H. Bennett [et al.] // *Circulation Research*. – 2013. – Vol. 113, № 11. – P. 1219–1230. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.113.301348.
257. Pogwizd, S.M. Arrhythmogenesis and contractile dysfunction in heart failure: roles of sodium-calcium exchange, inward rectifier potassium current, and residual β -adrenergic responsiveness / S.M. Pogwizd, K. Schlotthauer, L. Li [et al.] // *Circulation Research*. – 2001. – Vol. 88, № 11. – P. 1159–1167. – DOI 10.1161/hh1101.091193.
258. Ponikowski, P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) / P. Ponikowski, A.A. Voors, S.D. Anker [et al.] //

- European Heart Journal. – 2016. – Vol. 37, № 27. – P. 2129–2200. – DOI 10.1093/eurheartj/ehw128.
259. Ramasamy, R. Protection of ischemic hearts by high glucose is mediated, in part, by GLUT-4 / R. Ramasamy, Y.C. Hwang, J. Whang, S.R. Bergmann // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2001. – Vol. 281, № 1. – P. H290–H297. – DOI 10.1152/ajpheart.2001.281.1.H290.
260. Randle, P.J. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus / P.J. Randle, P.B. Garland, C.N. Hales, E.A. Newsholme // *The Lancet*. – 1963. – Vol. 281, № 7285. – P. 785–789. – DOI 10.1016/S0140-6736(63)91500-9.
261. Reed, M. Ranolazine [Электронный ресурс] / M. Reed, C.C. Kerndt, S. Gopal, D. Nicolas // *StatPearls*. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. – PMID 29939605. – URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507828/> [дата обращения: 05.06.2023].
262. Richter, W. Signaling from β 1- and β 2-adrenergic receptors is defined by differential interactions with PDE4 / W. Richter, P. Day, R. Agrawal [et al.] // *The EMBO Journal*. – 2008. – Vol. 27, № 2. – P. 384–393. – DOI 10.1038/sj.emboj.7601968.
263. Rohaim, A. Open and closed structures of a barium-blocked potassium channel / A. Rohaim, L. Gong, J. Li [et al.] // *Journal of Molecular Biology*. – 2020. – Vol. 432, № 17. – P. 4783–4798. – DOI 10.1016/j.jmb.2020.06.012.
264. Rosenblatt-Velin, N. Postinfarction heart failure in rats is associated with upregulation of GLUT-1 and downregulation of genes of fatty acid metabolism / N. Rosenblatt-Velin, C. Montessuit, I. Papageorgiou [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2001. – Vol. 52, № 3. – P. 407–416. – DOI 10.1016/S0008-6363(01)00393-5.
265. Roussel, J. Palmitoyl-carnitine increases RyR2 oxidation and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak in cardiomyocytes: Role of adenine nucleotide translocase / J. Roussel, J. Thireau, C. Brenner [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. – 2015. – Vol. 1852, № 5. – P. 749–758. – DOI 10.1016/j.bbadis.2015.01.011.
266. Rowley, C.N. A computational study of barium blockades in the KcsA potassium channel based on multi-ion potential of mean force calculations and free energy perturbation / C.N. Rowley, B. Roux // *The Journal of General Physiology*. – 2013. – Vol. 142, № 4. – P. 451–463. – DOI 10.1085/jgp.201311049.
267. Sabbah, H.N. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation (pFOX) inhibitor, improves left ventricular function in dogs with chronic heart failure / H.N. Sabbah, M.P. Chandler, T. Mishima [et al.] // *Journal of Cardiac Failure*. – 2002. – Vol. 8, № 6. – P. 416–422. – DOI 10.1054/jcaf.2002.129232.

268. Sack, M.N. Fatty acid oxidation enzyme gene expression is downregulated in the failing heart / M.N. Sack, T.A. Rader, S. Park [et al.] // *Circulation*. – 1996. – Vol. 94, № 11. – P. 2837–2842. – DOI 10.1161/01.CIR.94.11.2837.
269. Samovski, D. Regulation of AMPK activation by CD36 links fatty acid uptake to β -oxidation / D. Samovski, J. Sun, T. Pietka [et al.] // *Diabetes*. – 2015. – Vol. 64, № 2. – P. 353–359. – DOI 10.2337/db14-0582.
270. Sanfuentes, B. Ranolazine as an additional antianginal therapy in patients with stable symptomatic coronary artery disease / B. Sanfuentes, J.F. Bulnes // *Medwave*. – 2018. – Vol. 18, № 07. – P. e7331–e7331. – DOI 10.5867/medwave.2018.07.7331.
271. Santulli, G. Ryanodine Receptor Structure and Function in Health and Disease / G. Santulli, D. Lewis, A. des Georges [et al.] // *Sub-Cellular Biochemistry*. – 2018. – Vol. 87, P. 329–352. – DOI 10.1007/978-981-10-7757-9_11.
272. Satomi, S. Branched-chain amino acids-induced cardiac protection against ischemia/reperfusion injury / S. Satomi, A. Morio, H. Miyoshi [et al.] // *Life Sciences*. – 2020. – Vol. 245, P. 117368. – DOI 10.1016/j.lfs.2020.117368.
273. Schimmel, K. Cardiac fibrosis in the pressure overloaded left and right ventricle as a therapeutic target / K. Schimmel, K. Ichimura, S. Reddy [et al.] // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – Vol. 9, P. 886553. – DOI 10.3389/fcvm.2022.886553.
274. Schmidt, M. A new phospholipase-C-calcium signalling pathway mediated by cyclic AMP and a Rap GTPase / M. Schmidt, S. Evellin, P.A. Weernink [et al.] // *Nature Cell Biology*. – 2001. – Vol. 3, № 11. – P. 1020–1024. – DOI 10.1038/ncb1101-1020.
275. Schmidt-Schweda, S. First clinical trial with etomoxir in patients with chronic congestive heart failure / S. Schmidt-Schweda, C. Holubarsch // *Clinical Science*. – 2000. – Vol. 99, № 1. – P. 27–35. – PMID 10887055
276. Schotten, U. Atrial fibrillation-induced atrial contractile dysfunction: a tachycardiomyopathy of a different sort / U. Schotten, M. Greiser, D. Benke [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2002. – Vol. 53, № 1. – P. 192–201. – DOI 10.1016/s0008-6363(01)00453-9.
277. Schrauwen, P. An alternative function for human uncoupling protein 3: protection of mitochondria against accumulation of nonesterified fatty acids inside the mitochondrial matrix / P. Schrauwen, W.H.M. Saris, M.K.C. Hesselink // *The FASEB Journal*. – 2001. – Vol. 15, № 13. – P. 2497–2502. – DOI 10.1096/fj.01-0400hyp.
278. Sedky, A.A. Trimetazidine potentiates the antiepileptic activity and ameliorates the metabolic changes associated with pentylentetrazole kindling in rats treated with valproic acid / A.A. Sedky, O.M.H. El Serafy, O.A. Hassan [et al.] // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2017. – Vol. 95, № 6. – P. 686–696. – DOI 10.1139/cjpp-2016-0263.

279. Selye, H. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat / H. Selye, E. Bajusz, S. Grasso, P. Mendell // *Angiology*. – 1960. – Vol. 11, P. 398–407. – DOI 10.1177/000331976001100505.
280. Senanayake, E.L. Multicentre double-blind randomized controlled trial of perhexiline as a metabolic modulator to augment myocardial protection in patients with left ventricular hypertrophy undergoing cardiac surgery / E.L. Senanayake, N.J. Howell, A.M. Ranasinghe [et al.] // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2015. – Vol. 48, № 3. – P. 354–362. – DOI 10.1093/ejcts/ezu452.
281. Şentürk, T. Effective inhibition of cardiomyocyte apoptosis through the combination of trimetazidine and N-acetylcysteine in a rat model of myocardial ischemia and reperfusion injury / T. Şentürk, S. Çavun, B. Avcı [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2014. – Vol. 237, № 2. – P. 760–766. – DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.091.
282. Shaker, S. Trimetazidine improves the outcome of EECF therapy in patients with refractory angina pectoris / S. Shaker, F. Amran, G. Fatima [et al.] // *Medical Archives*. – 2020. – Vol. 74, № 3. – P. 199. – DOI 10.5455/medarh.2020.74.199-204.
283. Shan, J. Role of chronic ryanodine receptor phosphorylation in heart failure and β -adrenergic receptor blockade in mice / J. Shan, M.J. Betzenhauser, A. Kushnir [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2010. – Vol. 120, № 12. – P. 4375–4387. – DOI 10.1172/JCI37649.
284. Shao, D. Glucose transporters in cardiac metabolism and hypertrophy / D. Shao, R. Tian // *Comprehensive Physiology*. – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 331–351. – DOI 10.1002/cphy.c150016.
285. Sharma, S. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart / S. Sharma, J.V. Adrogué, L. Golfman [et al.] // *The FASEB Journal*. – 2004. – Vol. 18, № 14. – P. 1692–1700. – DOI 10.1096/fj.04-2263com.
286. Simkhovich, B.Z. 3-(2,2,2-Trimethylhydrazinium)propionate(thp)-a novel γ -butyrobetaine hydroxylase inhibitor with cardioprotective properties / B.Z. Simkhovich, Z.V. Shutenko, D.V. Meirėna [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 1988. – Vol. 37, № 2. – P. 195–202. – DOI 10.1016/0006-2952(88)90717-4.
287. Sipido, K.R. Na/Ca exchange and cardiac ventricular arrhythmias / K.R. Sipido, V. Bito, G. Antoons [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2007. – Vol. 1099, № 1. – P. 339–348. – DOI 10.1196/annals.1387.066.
288. Sisakian, H. The effect of trimetazidine on left ventricular systolic function and physical tolerance in patients with ischaemic cardiomyopathy / H. Sisakian, A. Torgomyan, A. Barkhudaryan // *Acta Cardiologica* – 2007. – № 5 – P.493–499. – DOI 10.2143/AC.62.5.2023413.
289. Sodi-Pallares, D. Effects of an intravenous infusion of a potassium-glucose-insulin solution on the electrocardiographic signs of myocardial infarction / D. Sodi-Pallares, M.R. Testelli, B.L.

- Fishleder [et al.] // *The American Journal of Cardiology*. – 1962. – Vol. 9, № 2. – P. 166–181. – DOI 10.1016/0002-9149(62)90035-8.
290. Song, H.-P. PI3K–AKT pathway protects cardiomyocytes against hypoxia-induced apoptosis by mitoKATP-mediated mitochondrial translocation of pAKT / H.-P. Song, Z.-G. Chu, D.-X. Zhang [et al.] // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2018. – Vol. 49, № 2. – P. 717–727. – DOI 10.1159/000493037.
291. Stanley, W.C. Myocardial Energy metabolism during ischemia and the mechanisms of metabolic therapies / W.C. Stanley // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. – 2004. – Vol. 9, № 1 suppl. – P. S31–S45. – DOI 10.1177/107424840400900104.
292. Stanley, W.C. Myocardial Substrate Metabolism in the Normal and Failing Heart / W.C. Stanley, F.A. Recchia, G.D. Lopaschuk // *Physiological Reviews*. – 2005. – Vol. 85, № 3. – P. 1093–1129. – DOI 10.1152/physrev.00006.2004.;
293. Sun, H. Catabolic Defect of Branched-Chain Amino Acids Promotes Heart Failure / H. Sun, K.C. Olson, C. Gao [et al.] // *Circulation*. – 2016. – Vol. 133, № 21. – P. 2038–2049. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020226.
294. Sun, W. Cardiac-specific deletion of the *pdha1* gene sensitizes heart to toxicological actions of ischemic stress / W. Sun, N. Quan, L. Wang [et al.] // *Toxicological Sciences*. – 2016. – Vol. 151, № 1. – P. 193–203. – DOI 10.1093/toxsci/kfw035.
295. Szekeres, L. Experimental cardiac arrhythmias / L. Szekeres, J.G. Papp // *Experimental production of diseases. Part 3, heart and circulation. Handbook of Experimental Pharmacology. Vol XVI/3 / ed. by J. Schmier, O. Eichler*. – New York : Springer, 1975. – P. 131-182.
296. Takeuchi, K. Glucose transporter upregulation improves ischemic tolerance in hypertrophied failing heart / K. Takeuchi, F.X. McGowan, P. Glynn [et al.] // *Circulation*. – 1998. – Vol. 98, № 19 Suppl. – P. II234-239; discussion II240-241.
297. Takla, M. The cardiac CaMKII-Nav1.5 relationship: From physiology to pathology / M. Takla, C.L.-H. Huang, K. Jeevaratnam // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2020. – Vol. 139, P. 190–200. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2019.12.014.
298. Tan, Y.-Q. Epac, a positive or negative signaling molecule in cardiovascular diseases / Y.-Q. Tan, J. Li, H.-W. Chen // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2022. – Vol. 148, P. 112726. – DOI 10.1016/j.biopha.2022.112726.
299. Taniguchi, M. Dichloroacetate improves cardiac efficiency after ischemia independent of changes in mitochondrial proton leak / M. Taniguchi, C. Wilson, C.A. Hunter [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2001. – Vol. 280, № 4. – P. H1762–H1769. – DOI 10.1152/ajpheart.2001.280.4.H1762.

300. Taylor, C.P. Na⁺ channels as targets for neuroprotective drugs / C.P. Taylor, B.S. Meldrum // Trends in Pharmacological Sciences. – 1995. – Vol. 16, № 9. – P. 309–316. – DOI 10.1016/S0165-6147(00)89060-4.
301. Taylor, C.W. Regulation of IP₃ receptors by cyclic AMP / C.W. Taylor // Cell Calcium. – 2017. – Vol. 63, P. 48–52. – DOI 10.1016/j.ceca.2016.10.005.
302. Teichholz, L.E. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy / L.E. Teichholz, T. Kreulen, M.V. Herman, R. Gorlin // The American Journal of Cardiology. – 1976. – Vol. 37, № 1. – P. 7–11. – DOI 10.1016/0002-9149(76)90491-4.
303. Temte, J.V. Effect of calcium concentration on the transmembrane potentials of purkinje fibers / J.V. Temte, L.D. Davis // Circulation Research. – 1967. – Vol. 20, № 1. – P. 32–44. – DOI 10.1161/01.res.20.1.32.
304. Terentyev, D. Luminal Ca²⁺ controls termination and refractory behavior of Ca²⁺-induced Ca²⁺ release in cardiac myocytes / D. Terentyev, S. Viatchenko-Karpinski, H.H. Valdivia [et al.] // Circulation Research. – 2002. – Vol. 91, № 5. – P. 414–420. – DOI 10.1161/01.res.0000032490.04207.bd.
305. Timmis, A. European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021 / A. Timmis, P. Vardas, N. Townsend, D. Sebastiao // European Heart Journal – 2022. – Vol. 43, № 8 – P.716–799. – DOI 10.1093/eurheartj/ehab892.
306. Tolunay, H. Antinociceptive effect of ranolazine and trimetazidine / H. Tolunay // Expert Review of Cardiovascular Therapy. – 2021. – Vol. 19, № 5. – P. 457–464. – DOI 10.1080/14779072.2021.1914589.
307. Tong, M. Mitophagy is essential for maintaining cardiac function during high fat diet-induced diabetic cardiomyopathy / M. Tong, T. Saito, P. Zhai [et al.] // Circulation Research. – 2019. – Vol. 124, № 9. – P. 1360–1371. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.118.314607.
308. Trautwein, W. Generation and conduction of impulses in the heart as affected by drugs / W. Trautwein // Pharmacological Reviews. – 1963. – Vol. 15, P. 277–332. – PMID 13994011.
309. Tuunanen, H. Free fatty acid depletion acutely decreases cardiac work and efficiency in cardiomyopathic heart failure / H. Tuunanen, E. Engblom, A. Naum [et al.] // Circulation. – 2006. – Vol. 114, № 20. – P. 2130–2137. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.645184.
310. Udelson, J.E. Glucose–insulin–potassium therapy for acute myocardial infarction: 50 years on and time for a relook / J.E. Udelson, H.P. Selker, E. Braunwald // Circulation. – 2022. – Vol. 146, № 7. – P. 503–505. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058740.

311. Ussher, J.R. Pyridine nucleotide regulation of cardiac intermediary metabolism / J.R. Ussher, J.S. Jaswal, G.D. Lopaschuk // *Circulation Research* / ed. by J. Sadoshima. – 2012. – Vol. 111, № 5. – P. 628–641. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.111.246371.
312. Ussher, J.R. Stimulation of glucose oxidation protects against acute myocardial infarction and reperfusion injury / J.R. Ussher, W. Wang, M. Gandhi [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2012. – Vol. 94, № 2. – P. 359–369. – DOI 10.1093/cvr/cvs129.
313. Ussher, J.R. Targeting malonyl CoA inhibition of mitochondrial fatty acid uptake as an approach to treat cardiac ischemia/reperfusion / J.R. Ussher, G.D. Lopaschuk // *Basic Research in Cardiology*. – 2009. – Vol. 104, № 2. – P. 203–210. – DOI 10.1007/s00395-009-0003-9.
314. van Bilsen, M. Metabolic remodelling of the failing heart: the cardiac burn-out syndrome? / M. van Bilsen, P. Smeets, A. Gilde, G. Vandervusse // *Cardiovascular Research*. – 2004. – Vol. 61, № 2. – P. 218–226. – DOI 10.1016/j.cardiores.2003.11.014.
315. van der Vusse, G. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease / G. van der Vusse, M. van Bilsen, J.F. Glatz // *Cardiovascular Research*. – 2000. – Vol. 45, № 2. – P. 279–293. – DOI 10.1016/S0008-6363(99)00263-1.
316. van Hall, G. Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise: Tissue lactate kinetics / G. van Hall // *Acta Physiologica*. – 2010. – Vol. 199, № 4. – P. 499–508. – DOI 10.1111/j.1748-1716.2010.02122.x.
317. Ventura-Clapier, R. Energy metabolism in heart failure: energy metabolism in heart failure / R. Ventura-Clapier, A. Garnier, V. Veksler // *The Journal of Physiology*. – 2004. – Vol. 555, № 1. – P. 1–13. – DOI 10.1113/jphysiol.2003.055095.
318. Voors, A.A. The SGLT2 inhibitor empagliflozin in patients hospitalized for acute heart failure: a multinational randomized trial / A.A. Voors, C.E. Angermann, J.R. Teerlink [et al.] // *Nature Medicine*. – 2022. – Vol. 28, № 3. – P. 568–574. – DOI 10.1038/s41591-021-01659-1.
319. Vytrykhovskiy, A.I. Reperfusion injury in acute period of myocardial infarction – ways of prevention and correction / A.I. Vytrykhovskiy, M.V. Fedorchenko // *Wiadomości Lekarskie*. – 2022. – Vol. 75, № 10. – P. 2514–2518. – DOI 10.36740/WLek202210137.
320. Wagner, L.E. Regulation of single inositol 1,4,5-trisphosphate receptor channel activity by protein kinase A phosphorylation / L.E. Wagner, S.K. Joseph, D.I. Yule // *The Journal of Physiology*. – 2008. – Vol. 586, № 15. – P. 3577–3596. – DOI 10.1113/jphysiol.2008.152314.
321. Wagner, S. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II regulates cardiac Na⁺ channels / S. Wagner, N. Dybkova, E.C.L. Rasenack [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2006. – Vol. 116, № 12. – P. 3127–3138. – DOI 10.1172/JCI26620.
322. Wang, J. Limiting cardiac ischemic injury by pharmacological augmentation of macrophage migration inhibitory factor–AMP-activated protein kinase signal transduction / J. Wang, C. Tong,

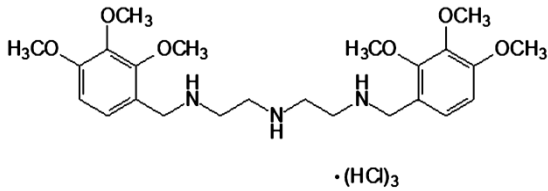
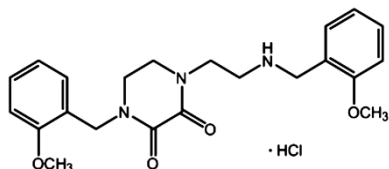
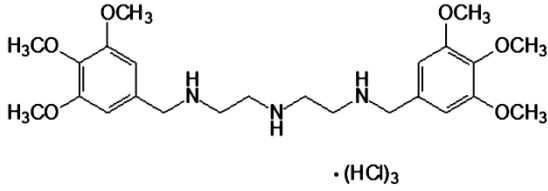
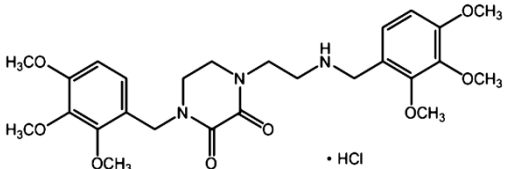
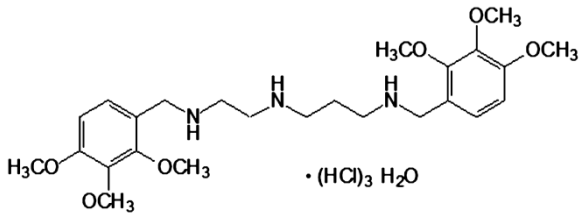
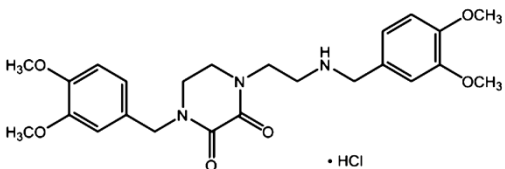
- X. Yan [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 128, № 3. – P. 225–236. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000862.
323. Wang, P. A Comparison between Ranolazine and CVT-4325, a Novel Inhibitor of Fatty Acid Oxidation, on Cardiac Metabolism and Left Ventricular Function in Rat Isolated Perfused Heart during Ischemia and Reperfusion / P. Wang, H. Fraser, S.G. Lloyd [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2007. – Vol. 321, № 1. – P. 213–220. – DOI 10.1124/jpet.106.115519.
324. Wang, W. Defective branched chain amino acid catabolism contributes to cardiac dysfunction and remodeling following myocardial infarction / W. Wang, F. Zhang, Y. Xia [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2016. – Vol. 311, № 5. – P. H1160–H1169. – DOI 10.1152/ajpheart.00114.2016.
325. Wang, Z. Specific metabolic rates of major organs and tissues across adulthood: evaluation by mechanistic model of resting energy expenditure / Z. Wang, Z. Ying, A. Bosy-Westphal [et al.] // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2010. – Vol. 92, № 6. – P. 1369–1377. – DOI 10.3945/ajcn.2010.29885.
326. Wargovich, T.J. Myocardial metabolic and hemodynamic effects of dichloroacetate in coronary artery disease / T.J. Wargovich, R.G. MacDonald, J.A. Hill [et al.] // *The American Journal of Cardiology*. – 1988. – Vol. 61, № 1. – P. 65–70. – DOI 10.1016/0002-9149(88)91306-9
327. Wehrens, X.H.T. Ryanodine receptor/calcium release channel PKA phosphorylation: A critical mediator of heart failure progression / X.H.T. Wehrens, S.E. Lehnart, S. Reiken [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 103, № 3. – P. 511–518. – DOI 10.1073/pnas.0510113103.
328. Willis, L.H. Effects of exercise training with and without ranolazine on peak oxygen consumption, daily physical activity, and quality of life in patients with chronic stable angina pectoris / L.H. Willis, C.A. Slentz, J.L. Johnson [et al.] // *The American Journal of Cardiology*. – 2019. – Vol. 124, № 5. – P. 655–660. – DOI 10.1016/j.amjcard.2019.05.063.
329. Wilson, S.R. Efficacy of ranolazine in patients with chronic angina observations from the randomized, double-blind, placebo-controlled MERLIN-TIMI (Metabolic Efficiency With Ranolazine for Less Ischemia in Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes) 36 Trial / S.R. Wilson, B.M. Scirica, E. Braunwald [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 53, № 17. – P. 1510–1516. – DOI 10.1016/j.jacc.2009.01.037.
330. Woll, K.A. Calcium-release channels: structure and function of IP 3 receptors and ryanodine receptors / K.A. Woll, F. Van Petegem // *Physiological Reviews*. – 2022. – Vol. 102, № 1. – P. 209–268. – DOI 10.1152/physrev.00033.2020.

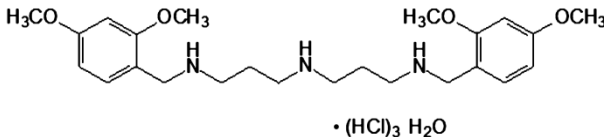
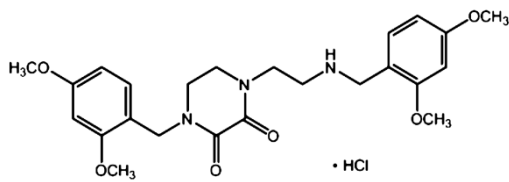
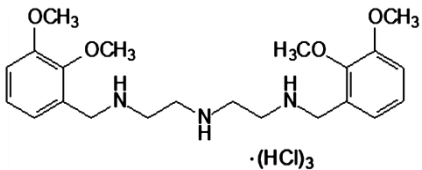
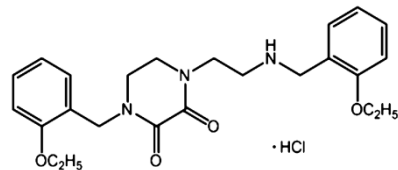
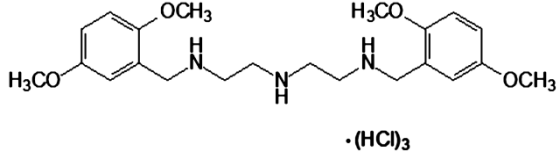
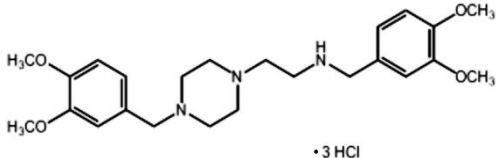
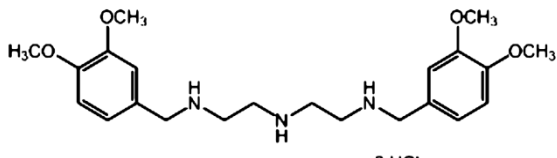
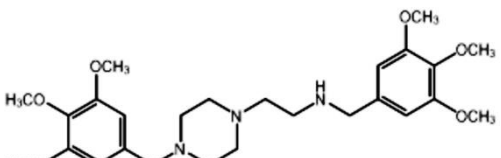
331. Wroge, J. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists in cardiac disorders / J. Wroge, N.T. Williams // *Annals of Pharmacotherapy*. – 2016. – Vol. 50, № 12. – P. 1041–1050. – DOI 10.1177/1060028016663218.
332. Wu, P. Adaptive increase in pyruvate dehydrogenase kinase 4 during starvation is mediated by peroxisome proliferator-activated receptor α / P. Wu, J.M. Peters, R.A. Harris // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2001. – Vol. 287, № 2. – P. 391–396. – DOI 10.1006/bbrc.2001.5608.
333. Wyatt, K.M. The antianginal agent ranolazine is a weak inhibitor of the respiratory complex I, but with greater potency in broken or uncoupled than in coupled mitochondria / K.M. Wyatt, C. Skene, K. Veitch [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 1995. – Vol. 50, № 10. – P. 1599–1606. – DOI 10.1016/0006-2952(95)02042-X.
334. Xie, W. Imaging atrial arrhythmic intracellular calcium in intact heart / W. Xie, G. Santulli, X. Guo [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2013. – Vol. 64, P. 120–123. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2013.09.003.
335. Xu, L. Activation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) by poly-S-nitrosylation / L. Xu, J.P. Eu, G. Meissner, J.S. Stamler // *Science*. – 1998. – Vol. 279, № 5348. – P. 234–237. – DOI 10.1126/science.279.5348.234.
336. Xu, X. Effect of trimetazidine on recurrent angina pectoris and left ventricular structure in elderly multivessel coronary heart disease patients with diabetes mellitus after drug-eluting stent implantation: a single-centre, prospective, randomized, double-blind study at 2-year follow-up / X. Xu, W. Zhang, Y. Zhou [et al.] // *Clinical Drug Investigation*. – 2014. – Vol. 34, № 4. – P. 251–258. – DOI 10.1007/s40261-014-0170-9.
337. Xue, Y. Ginsenoside Rc alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by reducing mitochondrial oxidative stress and apoptosis: role of SIRT1 activation / Y. Xue, W. Fu, P. Yu [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2023. – Vol. 71, № 3. – P. 1547–1561. – DOI 10.1021/acs.jafc.2c06926.
338. Yamamoto, S. Effect of SMP-300, a new Na⁺/H⁺ exchange inhibitor, on myocardial ischemia and experimental angina models in rats / S. Yamamoto, K. Matsui, M. Sasabe [et al.] // *Japanese Journal of Pharmacology*. – 2000. – Vol. 84, № 2. – P. 196–205. – DOI 10.1254/jjp.84.196.
339. Yue, T. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α protects the heart from ischemia/reperfusion injury / T. Yue, W. Bao, B.M. Jucker [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108, № 19. – P. 2393–2399. – DOI 10.1161/01.CIR.0000093187.42015.6C.
340. Zacharowski, K. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation inhibitor, reduces myocardial infarct size and cardiac troponin T release in the rat / K. Zacharowski, B. Blackburn, C. Thiemermann //

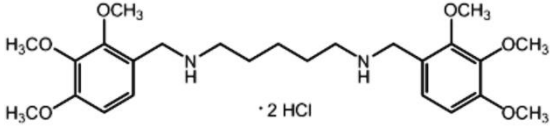
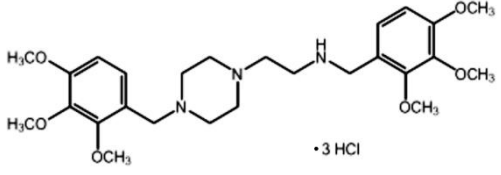
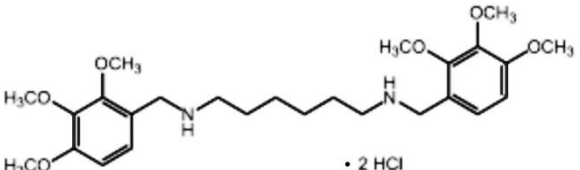
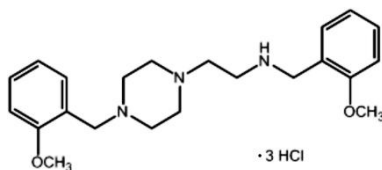
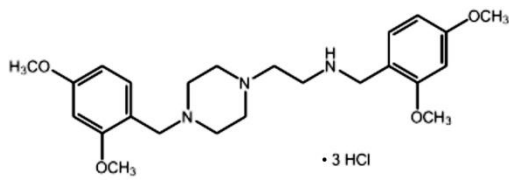
- European Journal of Pharmacology. – 2001. – Vol. 418, № 1–2. – P. 105–110. – DOI 10.1016/S0014-2999(01)00920-7.
341. Zalk, R. Ca²⁺ Release Channels Join the “Resolution Revolution” / R. Zalk, A.R. Marks // Trends in Biochemical Sciences. – 2017. – Vol. 42, № 7. – P. 543–555. – DOI 10.1016/j.tibs.2017.04.005.
342. Zareba, W. Ranolazine in High-Risk Patients With Implanted Cardioverter-Defibrillators: The RAID Trial / W. Zareba, J.P. Daubert, C.A. Beck [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2018. – Vol. 72, № 6. – P. 636–645. – DOI 10.1016/j.jacc.2018.04.086.
343. Zhang, F. Molecular mechanisms of caffeine-mediated intestinal epithelial ion transports / F. Zhang, H. Wan, X. Yang [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2019. – Vol. 176, № 11. – P. 1700–1716. – DOI 10.1111/bph.14640.
344. Zhang, Q.-J. Ceramide mediates vascular dysfunction in diet-induced obesity by PP2A-mediated dephosphorylation of the eNOS-Akt complex / Q.-J. Zhang, W.L. Holland, L. Wilson [et al.] // Diabetes. – 2012. – Vol. 61, № 7. – P. 1848–1859. – DOI 10.2337/db11-1399.
345. Zhang, X. Trimetazidine and l-carnitine prevent heart aging and cardiac metabolic impairment in rats via regulating cardiac metabolic substrates / X. Zhang, C. Liu, C. Liu [et al.] // Experimental Gerontology. – 2019. – Vol. 119, P. 120–127. – DOI 10.1016/j.exger.2018.12.019.
346. Zhao, C. The efficacy of trimetazidine in non-ischemic heart failure patients: a meta-analysis of randomized controlled trials / C. Zhao, C. Jin, X. He, M. Xiang // Reviews in Cardiovascular Medicine. – 2021. – Vol. 22, № 4. – P. 1451. – DOI 10.31083/j.rcm2204149.
347. Zhao, P. The effect of trimetazidine on cardiac function in diabetic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy / P. Zhao, J. Zhang, X.-G. Yin [et al.] // Life Sciences. – 2013. – Vol. 92, № 11. – P. 633–638. – DOI 10.1016/j.lfs.2012.03.015.
348. Zheng, M. Emerging concepts and therapeutic implications of β -adrenergic receptor subtype signaling / M. Zheng, W. Zhu, Q. Han, R.-P. Xiao // Pharmacology & Therapeutics. – 2005. – Vol. 108, № 3. – P. 257–268. – DOI 10.1016/j.pharmthera.2005.04.006.
349. Zhu, W.-Z. Dual modulation of cell survival and cell death by β 2-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes / W.-Z. Zhu, M. Zheng, W.J. Koch [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – Vol. 98, № 4. – P. 1607–1612. – DOI 10.1073/pnas.98.4.1607.
350. Zima, A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters / A. Zima, L. Blatter // Cardiovascular Research. – 2006. – Vol. 71, № 2. – P. 310–321. – DOI 10.1016/j.cardiores.2006.02.019.
351. Zorov, D.B. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release / D.B. Zorov, M. Juhaszova, S.J. Sollott // Physiological Reviews. – 2014. – Vol. 94, № 3. – P. 909–950. – DOI 10.1152/physrev.00026.2013.

Приложение 1

Линейные и циклические алкоксифенилазаны (шифры, химические названия и структурные формулы)

Линейные алкоксифенилазаны	Циклические алкоксифенилазаны
<p>АЛМ-802</p>  <p>Тригидрохлорид N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина</p>	<p>АЛМ-832</p>  <p>Гидрохлорид 1-(2-метоксибензил)-4-{2-[(2-метоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона</p>
<p>АЛМ-803</p>  <p>Тригидрохлорид N¹-(3,4,5-триметоксибензил)-N²-{2-[(3,4,5-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина</p>	<p>АЛМ-833</p>  <p>Гидрохлорид 1-(2,3,4-триметоксибензил)-4-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона</p>
<p>АЛМ-811</p>  <p>Тригидрохлорид N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N³-{3-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,3-пропандиамина</p>	<p>АЛМ-835</p>  <p>Гидрохлорид 1-(3,4-диметоксибензил)-4-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона</p>

Линейные алкоксифенилаалканы	Циклические алкоксифенилаалканы
<p>АЛМ-812</p>  <p>• (HCl)₃ H₂O</p> <p>Тригидрохлорид N¹-(2,4-диметоксибензил)-N³-{3-[(2,4-диметоксибензил)амино]пропил}-1,3-пропандиамина</p>	<p>АЛМ-836</p>  <p>• HCl</p> <p>Гидрохлорид 1-(2,4-диметоксибензил)-4-{2-[(2,4-диметоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона</p>
<p>АЛМ-815</p>  <p>• (HCl)₃</p> <p>Тригидрохлорид N¹-(2,3-диметоксибензил)-N²-{2-[(2,3-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина</p>	<p>АЛМ-263</p>  <p>• HCl</p> <p>Гидрохлорид 1-(2-этоксibenзил)-4-{2-[(2-этоксibenзил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона</p>
<p>АЛМ-821</p>  <p>• (HCl)₃</p> <p>Тригидрохлорид N¹-(2,5-диметоксибензил)-N²-{2-[(2,5-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина</p>	<p>АЛМ-838</p>  <p>• 3 HCl</p> <p>Тригидрохлорид 1-(3,4-диметоксибензил)-4-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]этил}-пиперазина</p>
<p>АЛМ-843</p>  <p>• 3 HCl</p> <p>Тригидрохлорид N¹-(3,4-диметоксибензил)-N²-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина</p>	<p>АЛМ-839</p>  <p>• 3 HCl</p> <p>Тригидрохлорид 1-(3,4,5-триметоксибензил)-4-{2-[(3,4,5-триметоксибензил)амно]этил}пиперазина</p>

Линейные алкоксифенилаалканы	Циклические алкоксифенилаалканы
<p>АЛМ-844</p>  <p>Дигидрохлорид N¹,N⁵-бис(2,3,4-триметоксибензил)-пентан-1,5-диамина</p>	<p>АЛМ-840</p>  <p>Тригидрохлорид 1-(2,3,4-триметоксибензил)-4-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}пиперазина</p>
<p>АЛМ-845</p>  <p>Дигидрохлорид N¹,N⁶-бис(2,3,4-триметоксибензил)-гексан-1,6-диамина</p>	<p>АЛМ-841</p>  <p>Тригидрохлорид 1-(2-метоксибензил)-4-{2-[(2-метоксибензил)амино]этил}-пиперазина</p>
	<p>АЛМ-842</p>  <p>Тригидрохлорид 1-(2,4-диметоксибензил)-4-{2-[(2,4-диметоксибензил)амино]этил}пиперазина</p>